

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-356437

(43)Date of publication of application : 13.12.2002

(51)Int.Cl.

A61K 38/00
A01K 67/027
A61K 31/711
A61K 45/00
A61K 48/00
A61P 19/00
A61P 19/02
A61P 19/08
A61P 19/10
A61P 43/00
C12N 5/06
C12N 15/09
C12Q 1/02
C12Q 1/68
G01N 33/15
G01N 33/50
G01N 33/53
G01N 33/566
// G07K 14/47

(21)Application number : 2001-235851

(71)Applicant : TAKEDA CHEM IND LTD

(22)Date of filing : 03.08.2001

(72)Inventor : HIKICHI YUICHI

(30)Priority

Priority number : 2000242767 Priority date : 04.08.2000 Priority country : JP

(54) USE OF GLI1 GENE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a use of Gli1 gene.

SOLUTION: A screening method using a cell capable of expressing Gli1 gene can be used for the search of a compound or its salt having an activity to control the expression of Gli1 gene. A compound having an activity to promote the expression of Gli1 gene has a bone or cartilage inducing activity and, accordingly, it can be used as an agent for preventing and treating diseases of orthopedic field, diseases of dental surgery field and osteoporosis, etc. It is further usable as a treating agent for bone grafting in cosmetic surgery field and a differentiation inducing agent for autotransplantation in regeneration medicine. A compound active to inhibit the expression of Gli1 gene can be used e.g. as a preventing and treating agent for hyperosteogenesis or hyperchondrogenesis.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]
[Patent number]
[Date of registration]
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (JP)

(20) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-356437

(P2002-356437A)

(43)公開日 平成14年12月13日 (2002.12.13)

(51)Int.Cl'	識別記号	F I	チエリト(参考)
A 61 K 38/00		A 01 K 67/027	2 G 0 4 5
A 61 K 37/027		A 61 K 21/711	4 B 0 2 4
A 61 K 31/711		45/00	4 B 0 6 3
45/00		48/00	4 B 0 6 5
48/00		A 61 P 19/00	4 C 0 8 4

審査請求 未請求 請求項の数51 OL (全 68 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001-235851(P2001-235851)

(22)出願日 平成12年8月3日 (2001.8.3)

(31)優先権主張番号 特願2000-242767(P2000-242767)

(32)優先日 平成12年8月4日 (2000.8.4)

(33)優先権主張国 日本 (JP)

(71)出願人 000002934

武田薬品工業株式会社

大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号

(72)発明者 引地 裕一

茨城県つくば市松代4丁目21番2 シャレ

ールつくば松代1号棟504号

(74)代理人 100093676

弁理士 小林 純子 (外3名)

最終頁に続く

(34)【発明の名稱】 G 111 遺伝子の用途

(57)【要約】

【課題】 G 111 遺伝子の用途の提供。

【効果】 本発明のG 111 遺伝子を発現する能力を有する細胞を用いたスクリーニング方法は、G 111 遺伝子の発現を制御する活性を有する化合物またはその塩の探査に用いることができる。G 111 遺伝子の発現を促進する活性を有する化合物は骨、あるいは軟骨誘導活性を有するため、整形外科領域の疾患、または歯科領域の疾患、さらには骨粗鬆症などの予防・治療剤として用いることができる。また、美容外科領域における骨移植の治療剤としても用いることができるし、再生医療における自家移植の際の分化誘導剤としても利用できる。一方、G 111 遺伝子の発現を阻害する活性を有する化合物は、例えば骨・軟骨形成過剰症の予防・治療剤として用いることができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 G111タンパク質、その部分ペプチドまたはその塩を含有する骨・軟骨分化誘導剤。

【請求項2】 G111タンパク質が配列番号：10、配列番号：11、配列番号：13、配列番号：15または配列番号：17で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質である請求項1記載の剤。

【請求項3】 G111タンパク質が配列番号：10、配列番号：11、配列番号：13、配列番号：15または配列番号：17で表されるアミノ酸配列を含有するタンパク質である請求項1記載の剤。

【請求項4】 G111タンパク質、その部分ペプチドまたはその塩を含有する骨折、変形性関節症、骨關節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療剤、骨・軟骨欠損部の再生治療剤、骨再建剤または骨移植治療剤。

【請求項5】 G111タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有する骨・軟骨分化誘導剤。

【請求項6】 DNAが配列番号：9、配列番号：12、配列番号：14、配列番号：16または配列番号：18で表される塩基配列を含有する請求項5記載の剤。

【請求項7】 G111タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有する組換えベクターを含有する請求項5記載の剤。

【請求項8】 G111タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有する骨折、変形性関節症、骨關節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療剤、骨・軟骨欠損部の再生治療剤、骨再建剤または骨移植治療剤。

【請求項9】 G111タンパク質、その部分ペプチドまたはその塩の有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨・軟骨分化誘導方法。

【請求項10】 G111タンパク質、その部分ペプチドまたはその塩の有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨折、変形性関節症、骨關節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療方法。

【請求項11】 骨・軟骨分化誘導剤を製造するためのG111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの塩の使用。

【請求項12】 骨折、変形性関節症、骨關節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療剤、骨・軟骨欠損部の再生治療剤、骨再建剤または骨移植治療剤を製造するためのG111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの塩の使用。

【請求項13】 G111タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAの有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨・軟骨分化誘導方法。

【請求項14】 G111タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAの有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨折、変形性関節症、骨關節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療方法。

【請求項15】 骨・軟骨分化誘導剤を製造するためのG111タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAの使用。

【請求項16】 骨折、変形性関節症、骨關節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療剤、骨・軟骨欠損部の再生治療剤、骨再建剤または骨移植治療剤を製造するためのG111タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAの使用。

【請求項17】 配列番号：10、配列番号：11、配列番号：12、配列番号：15または配列番号：17で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAの塩基配列に相補的もしくは実質的に相補的な塩基配列を含有するアンチセンスDNAを含有する骨・軟骨分化調節剤。

【請求項18】 配列番号：10、配列番号：11、配列番号：13、配列番号：15または配列番号：17で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAの塩基配列に相補的もしくは実質的に相補的な塩基配列を含有するアンチセンスDNAを含有する骨・軟骨形成過剰症の予防・治療剤。

【請求項19】 配列番号：10、配列番号：11、配列番号：13、配列番号：15または配列番号：17で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNA、または該DNAの塩基配列に相補的もしくは実質的に相補的な塩基配列を含有するアンチセンスDNAを用いることを特徴とする骨・軟骨疾患の診断剤。

【請求項20】 配列番号：10、配列番号：11、配列番号：13、配列番号：15または配列番号：17で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNA、または該DNAの塩基配列に相補的もしくは実質的に相補的な塩基配列を含有するアンチセンスDNAを用いることを特徴とする骨・軟骨疾患の診断方法。

【請求項21】 G111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの塩の抗体を含有する骨・軟骨疾患の診断剤。

【請求項22】 G111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの塩の抗体を用いることを特徴とする骨・軟骨疾患の診断方法。

【請求項23】 G111タンパク質、その部分ペプチ

ドまたはそれらの塩を用いることを特徴とする骨・軟骨分化調節作用を有する化合物またはその塩のスクリーニング方法。

【請求項24】 G111タンパク質またはその部分ペプチドを発現する能力を有する細胞を用いることを特徴とする請求項23記載のスクリーニング方法。

【請求項25】 G111タンパク質またはその部分ペプチドを発現する能力を有する細胞を試験化合物の存在下および非存在下に培養し、軟骨分化のマーカー遺伝子の発現量を測定することを特徴とする請求項23記載のスクリーニング方法。

【請求項26】 軟骨分化のマーカー遺伝子がI1型Bコラーゲン遺伝子である請求項25記載のスクリーニング方法。

【請求項27】 G111タンパク質またはその部分ペプチドを発現する能力を有する細胞を試験化合物の存在下および非存在下に培養し、細胞の軟骨分化状態を観察することを特徴とする請求項23記載のスクリーニング方法。

【請求項28】 G111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの塩を含有することを特徴とする骨・軟骨分化調節作用を有する化合物またはその塩のスクリーニング用キット。

【請求項29】 請求項23～27記載のスクリーニング方法、または請求項28記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、骨・軟骨分化調節作用を有する化合物またはその塩。

【請求項30】 請求項29記載の化合物またはその塩を含有する骨・軟骨分化調節剤。

【請求項31】 請求項29記載の化合物またはその塩を含有する骨折、変形性関節症、骨關節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症、骨粗鬆症または骨・軟骨形成過剰症の予防・治療剤、骨・軟骨欠損部の再生治療剤、骨再建剤または骨移植治療剤。

【請求項32】 請求項29記載の化合物またはその塩の有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨・軟骨疾患の予防・治疗方法。

【請求項33】 請求項29記載の化合物またはその塩の有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨折、変形性関節症、骨關節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症、骨粗鬆症または骨・軟骨形成過剰症の予防・治療法。

【請求項34】 骨・軟骨疾患の予防・治療剤を製造するための請求項29記載の化合物またはその塩の使用。

【請求項35】 骨折、変形性関節症、骨關節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症、骨粗鬆症または骨・軟骨形成過剰症の予防・治療剤、骨・軟骨欠損部の再生治療剤、骨再建剤または骨移植治療剤を製造するための請求項29記載の化合物またはその塩の使用。

【請求項36】 G111タンパク質、その部分ペプチ

ドまたはその塩の作用を増強または活性化することを特徴とする骨・軟骨分化誘導方法。

【請求項37】 G111タンパク質、その部分ペプチドまたはその塩の作用を増強または活性化することを特徴とする骨折、変形性関節症、骨關節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療方法。

【請求項38】 G111遺伝子を発現する能力を有する細胞を用いることを特徴とするG111遺伝子の発現を制御する活性を有する化合物またはその塩のスクリーニング方法。

【請求項39】 G111遺伝子を発現する能力を有する細胞を試験化合物の存在下および非存在下に培養し、G111遺伝子DNAもしくはその相補DNAまたはその部分DNAを用いてそれぞれのG111タンパク質をコードするmRNAの量を測定することを特徴とする請求項38記載のスクリーニング方法。

【請求項40】 G111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーをレポーター遺伝子に連結させたDNAで形質転換した細胞を試験化合物の存在下および非存在下に培養し、それぞれの該レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とするG111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御する作用を有する化合物またはその塩のスクリーニング方法。

【請求項41】 G111遺伝子を発現する能力を有する細胞が骨または軟骨への分化能を有する細胞あるいは既に分化形態を示している細胞である請求項38記載のスクリーニング方法。

【請求項42】 G111遺伝子を発現する能力を有する細胞を含有することを特徴とするG111遺伝子の発現を制御する活性を有する化合物またはその塩のスクリーニング用キット。

【請求項43】 G111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーをレポーター遺伝子に連結させたDNAで形質転換した細胞を含有することを特徴とするG111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御する作用を有する化合物またはその塩のスクリーニング用キット。

【請求項44】 請求項38記載のスクリーニング方法、または請求項42記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、G111遺伝子の発現を制御する活性を有する化合物またはその塩（組し、G113遺伝子またはその産物を除く）。

【請求項45】 請求項40記載のスクリーニング方法、または請求項43記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、G111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御する作用を有する化合物またはその塩。

【請求項46】 請求項44または45記載の化合物またはその塩を含有する医薬。

【請求項47】 請求項44または45記載の化合物またはその塩を含有する骨・軟骨疾患の予防・治療剤。

【請求項48】 請求項44または45記載の化合物またはその塩の有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨・軟骨疾患の予防・治療方法。

【請求項49】 骨・軟骨疾患の予防・治療剤を製造するための請求項44または45記載の化合物またはその塩の使用。

【請求項50】 G111遺伝子の発現を増強または活性化することを特徴とする骨・軟骨分化誘導方法。

【請求項51】 G111遺伝子の発現を増強または活性化することを特徴とする骨折、変形性関節症、骨關節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はG111遺伝子を発現する能力を有する細胞を用いたG111遺伝子の発現を制御(促進または阻害)する活性を有する化合物またはその塩のスクリーニング方法、該スクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩、および該化合物の用途に関する。

【0002】

【従来の技術】グリア芽腫遺伝子(G111、G112およびG113)のうち、G111遺伝子の産物であるG111タンパク質はzinc fingerを有する転写因子に属し、ショウジョウバエの転写因子C(*Cubitus interruptus*)の脊椎動物におけるホモログとされている(Aza-Blanc, P. et al., Trends Genet. (1989) 15, 458-462)。ショウジョウバエC1の機能については研究が進んでおり、C1が誘導する分子などが報告されている(McMahon, A.P. et al., Cell (2000) 100, 185-188)。G111タンパク質については、3種のG111タンパク質すべてがzinc finger領域を介して共通な配列に結合すること、G113タンパク質が直接G111遺伝子に含まれるプロモーター領域に結合し、その転写を誘導していることなどが報告されているが、G111タンパク質の機能はショウジョウバエのC1タンパク質の機能からの類推が主となっており、誘導分子などについても未だの点が多い。一方、G111遺伝子発現はヘッジホッグ(hedgehog)と呼ばれる可溶性分泌タンパク質によるシグナル伝達によって誘導されるとされている(Dai, P. et al., J. Biol. Chem. (1999) 274, 8143-8152)。ヘッジホッグファミリーは昆蟲から脊椎動物までを含む多くの動物種における形態形成の鍵として注目されている一群のタンパク因子であり、例えばSonic hedgehogの活性部位であるN末端ドメインを強制発現させた繊維芽細胞をヌードマウスに移植すると異所性骨形成が誘導されることが報告されている(Kinlo, N. et al., FEBS Lett. (1997) 404, 319-323)。これらの点で

ヘッジホッグタンパク質は様々な骨・軟骨障害、骨・軟骨疾患の治療、予防に有効と考えられるが、天然には微量にしか存在せず、治療に使用するべく大量入手するためには組み換え型タンパク質を生産する必要がある。一般的に組み換え型タンパク質の生産は低分子化合物の生産よりはるかに多くの費用を要し、またタンパク質という特性から、医薬品としての特性、投与法にも制約がある。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】骨・軟骨組織は未分化間葉系細胞等の多分化能を有する細胞の骨・軟骨前駆細胞への分化決定の後、骨・軟骨細胞への分化、増殖、骨・軟骨基質の合成といった一連の過程を経て形成される。胎生期や骨折治癒などの骨形成過程においては一般に軟骨分化が骨形成に先立つて起こることから、軟骨分化促進は骨分化促進にもつながる。障害を受けた骨・軟骨組織の修復や再生を要する疾患、あるいは過形成が問題となっている疾患はこれらのいずれかの過程が破綻していると考えられるが、これらを治療に向かせる安価で、効果的な優れた医薬品の創製が切望されていた。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記の課題を解決するために継続検討した結果、G111の機能解析研究においてG111を強制発現させると、軟骨マーカーの発現が亢進することを見出し、さらには例えはScierax1などのヘッジホッゲングナルに曝露するとの報告がない転写因子の遺伝子を強制発現させることによってもG111誘導は可能であることなどからヘッジホッグタンパク質を用いなくともG111発現の制御が可能であることを見出した。さらにヘッジホッグレセプターに直接受作用するものではない一部の既存低分子化合物がG111の発現を誘導し、ひいては軟骨マーカー遺伝子の発現をも誘導することを見出した。本発明者らは、これらの知見に基づいて、さらに検討を重ねた結果、本発明を完成するに至った。

【0005】 すなわち、本発明は

(1) G111タンパク質、その部分ペプチドまたはその塩を含有する骨・軟骨分化誘導剤、(2) G111タンパク質が配列番号：10、配列番号：11、配列番号：13、配列番号：15または配列番号：17で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質である前記(1)記載の剤、(3) G111タンパク質が配列番号：10、配列番号：11、配列番号：13、配列番号：15または配列番号：17で表されるアミノ酸配列を含有するタンパク質である前記(1)記載の剤、(4) G111タンパク質、その部分ペプチドまたはその塩を含有する骨折、変形性関節症、骨關節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療剤、骨・軟骨欠損部の再生治療剤、骨再建剤または骨移植治療

剤、(5) G 1 i 1 タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有する骨・軟骨分化誘導剤、(6) DNAが配列番号：9、配列番号：12、配列番号：14、配列番号：16または配列番号：18で表される癌基配列を含有する前記(5)記載の組、(7) G 1 i 1 タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有する組換えヘクターを含有する前記(5)記載の組、(8) G 1 i 1 タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有する骨折、変形性関節症、骨関節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療剤、骨・軟骨欠損部の再生治療剤、骨再建剤または骨移植治療剤、(9) G 1 i 1 タンパク質、その部分ペプチドまたはその他の有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨・軟骨分化誘導方法、(10) G 1 i 1 タンパク質、その部分ペプチドまたはその他の有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨折、変形性関節症、骨関節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療方法、(11) 骨・軟骨分化誘導剤を製造するためのG 1 i 1 タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの組の使用、(12) 骨折、変形性関節症、骨関節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療剤、骨・軟骨欠損部の再生治療剤、骨再建剤または骨移植治療剤を製造するためのG 1 i 1 タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの組の使用、(13) G 1 i 1 タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAの有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨・軟骨分化誘導方法、(14) G 1 i 1 タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAの有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨折、変形性関節症、骨関節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療方法、(15) 骨・軟骨分化誘導剤を製造するためのG 1 i 1 タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAの使用、(16) 骨折、変形性関節症、骨関節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗鬆症の予防・治療剤、骨・軟骨欠損部の再生治療剤、骨再建剤または骨移植治療剤を製造するためのG 1 i 1 タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAの使用、(17) 配列番号：10、配列番号：11、配列番号：13、配列番号：16または配列番号：17で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAの癌基配列に相補的もしくは実質的に相補的な癌基配列を含有するアンチセンスDNAを含有する骨・軟骨分化阻害剤、(18) 配列番号：10、配列番号：11、配列番号：13、配列番号：16または配列番号：17で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNA

の化合物またはその塩の有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨・軟骨疾患の予防・治療方法、(3-3) 前記(2-9) 記載の化合物またはその塩の有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨折、変形性関節症、骨粗節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症、骨粗節症または骨・軟骨形成過剰症の予防・治療方法、(3-4) 骨・軟骨疾患の予防・治療剤を製造するための前記(2-9) 記載の化合物またはその塩の使用、(3-5) 骨折、変形性関節症、骨粗節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症、骨粗節症または骨・軟骨形成過剰症の予防・治療剤、骨・軟骨欠損部の再生治療剤、骨再建剤または骨移植治療剤を製造するための前記(2-9) 記載の化合物またはその塩の使用、(3-6) G 11-1 タンパク質、その部分ペプチドまたはその塩の作用を増強または活性化することを特徴とする骨・軟骨分化誘導方法、(3-7) G 11-1 タンパク質、その部分ペプチドまたはその塩の作用を増強または活性化することを特徴とする骨折、変形性関節症、骨粗節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗節症の予防・治疗方法、(3-8) G 11-1 遺伝子を発現する能力を有する細胞を用いることを特徴とする G 11-1 遺伝子の発現を制御する活性を有する化合物またはその塩のスクリーニング方法、(3-9) G 11-1 遺伝子を発現する能力を有する細胞を試験化合物の存在下および非存在下に培養し、G 11-1 遺伝子DNAもしくはその相補DNAまたはその部分DNAを用いてそれぞれのG 11-1 タンパク質をコードするmRNAの量を測定することを特徴とする前記(3-8) 記載のスクリーニング方法、(4-0) G 11-1 遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーをレポーター遺伝子に連結させたDNAで形質転換した細胞を試験化合物の存在下および非存在下に培養し、それぞれの該レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とするG 11-1 遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御する作用を有する化合物またはその塩のスクリーニング方法、(4-1) G 11-1 遺伝子を発現する能力を有する細胞が骨または軟骨への分化能を有する細胞あるいは既に分化形態を示している細胞である前記(3-8) 記載のスクリーニング方法、(4-2) G 11-1 遺伝子を発現する能力を有する細胞を含有することを特徴とするG 11-1 遺伝子の発現を制御する活性を有する化合物またはその塩のスクリーニング用キット、(4-3) G 11-1 遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーをレポーター遺伝子に連結させたDNAで形質転換した細胞を含有することを特徴とするG 11-1 遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御する作用を有する化合物またはその塩のスクリーニング用キット、(4-4) 前記(3-8) 記載のスクリーニング方法、または前記(4-2) 記載のスクリーニング用キットを用いて得られるる、G 11-1 遺伝子の発現を制御する活性を有する化合物またはその塩(但し、配列番

号: 20または配列番号: 22で表されるG 11-3 遺伝子またはその産物(配列番号: 19または配列番号: 31)を除く)、(4-5) 前記(4-0) 記載のスクリーニング方法、または前記(4-3) 記載のスクリーニング用キットを用いて得られるる、G 11-1 遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御する作用を有する化合物またはその塩、(4-6) 前記(4-4) または(4-5) 記載の化合物またはその塩を含有する医薬、(4-7) 前記(4-4) または(4-6) 記載の化合物またはその塩を含有する骨・軟骨疾患の予防・治療剤、(4-8) 前記(4-4) または(4-5) 記載の化合物またはその塩の有効量を哺乳動物に投与することを特徴とする骨・軟骨疾患の予防・治療方法、(4-9) 骨・軟骨疾患の予防・治療剤を製造するための前記(4-4) または(4-5) 記載の化合物またはその塩の使用、(5-0) G 11-1 遺伝子の発現を増強または活性化することを特徴とする骨・軟骨分化誘導方法、(5-1) G 11-1 遺伝子の発現を増強または活性化することを特徴とする骨折、変形性関節症、骨粗節炎、軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症または骨粗節症の予防・治疗方法などを提供する。

【0006】

【発明の実施の形態】本発明においてG 11-1 遺伝子とはSasaki et al. Development (1999) 129, 3915-3924、Kinzler, KW, et al., Science (1987) 236, 70-73などに記載されている名知の遺伝子であり、マウスの遺伝子はAFD26306、ABD25922、ヒトの遺伝子はX07384としてGenBankに各自対応するアミノ酸配列とともに登録されている。また、G 11-1 遺伝子の多型についての研究がなされ、配列番号: 1-4、1-6 および 1-8 (対応するアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 1-3、1-5 および 1-7) で表される、ヒト G 11-1 遺伝子上に 3箇所の塩基置換が存在していることが報告されている (J. Invest. Dermatol. (2000) 115, 328-329)。本発明において「G 11-1 タンパク質」としては、配列番号: 1-0、1-1、1-3、1-5 または 1-7 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは实质的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質を挙げることができる。G 11-1 タンパク質は、例えば、造血動物(例えば、ヒト、モルモット、ラット、マウス、ニワトリ、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サル等)のあらゆる細胞(例えば、神経細胞、神経細胞、グリア細胞、肺纖維細胞、骨髄細胞、メサンギウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、線維芽細胞、纖維細胞、前細胞、筋芽細胞、脂肪細胞、免疫細胞(例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塞性球、好酸球、单球)、巨噬球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、軟骨細胞、乳腺細胞、肝細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞など)や血球系の細胞、

またはそれらの細胞が存在するあらゆる組織。例えは、脳、脳の各部位（例、嗅球、脛頭核、大脳基底球、海馬、視床、視床下部、視床下核、大脳皮質、延髄、小脳、後頭葉、前頭葉、側頭葉、被蓋、尾状核、腦島、黒質）、脊髓、下垂体、胃、脾臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髄、肺臓、皮膚、筋肉、肺、消化管（例、大腸、小腸）、血管、心臓、胸腺、脾臓、頸下腺、末梢血、末梢血球、前立腺、睾丸、精巢、卵巢、胎盤、子宮、骨、脂肪、骨格筋などに由来するタンパク質であってもよく、また合成タンパク質であってもよい。なかでも温血動物（例えは、ヒト、モルモット、ラット、マウス、ニワトリ、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サル等）の細胞（例えは、グリア細胞、骨髄細胞、表皮細胞、纖維芽細胞、筋芽細胞、軟骨細胞、骨細胞もしくは骨芽細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞等）などに由来するタンパク質が好ましく用いられる。

【0007】配列番号：10、11、13、15または17で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、例えは、配列番号：10、11、13、15または17で表わされるアミノ酸配列と約50%以上、好ましくは約60%以上、より好ましくは約70%以上、さらに好ましくは約80%以上、なかでも好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同意を有するアミノ酸配列などが挙げられる。本発明の配列番号：10、11、13、15または17で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質としては、例えは、配列番号：10、11、13、15または17で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：10、11、13、15または17で表わされるアミノ酸配列を有するタンパク質と実質的に同質の活性を有するタンパク質などが好ましい。実質的に同質の活性としては、例えは、転写活性や骨・軟骨分化誘導作用などが挙げられる。実質的に同質とは、転写活性や骨・軟骨分化誘導作用が性質的に同質であることを示す。したがつて、転写活性や骨・軟骨分化誘導作用が同等（例、約0.01～100倍、好ましくは約0.5～20倍、より好ましくは約0.5～2倍）であることが好ましいが、これらの活性の程度やタンパク質の分子量などの量的要素は異なっていてもよい。骨・軟骨分化誘導作用などの活性の測定は、公知の方法に準じて行うことができるが、例えは、後に記載するスクリーニング方法に従つて測定することができる。転写活性の測定は公知の方法、例えはレポーター・アッセイや、RT-PCRなどの方法を用いて行うことができる。

【0008】また、本発明で用いられるのG111タンパク質としては、①配列番号：10、11、13、15または17で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1

～10個程度、さらには好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：10、11、13、15または17で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：10、11、13、15または17で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらには好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列。または④それらを組み合わせたアミノ酸配列を含有するタンパク質なども用いられる。

【0009】本明細書におけるG111タンパク質は、ペプチド表記の慣例に従つて、左端がN末端（アミノ末端）、右端がC末端（カルボキシル末端）である。配列番号：10、11、13、15または17で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をはじめとする、本発明のG111タンパク質は、C末端がカルボキシル基（-COOH）、カルボキシレート（-COO⁻）、アミド（-CONH₂）またはエステル（-COOR）の何れであってもよい。ここでエステルにおけるRとしては、例えは、メチル、エチル、ヨーピロビル、イソプロピルもしくはオーブチルなどのC₁～アルキル基。例えは、シクロヘキシル、シクロヘキシルなどのC₆、シクロアルキル基。例えは、フェニル、α-ナフチルなどのC₆、アリール基。例えは、ベンジル、フェネチルなどのフェニル-C₆、アルキル基もしくはα-ナフチルメチルなどのα-ナフチル-C₆、アルキル基などのC_n、アラルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるビバコイルオキシメチル基などが用いられる。本発明におけるG111タンパク質がC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものも本発明におけるG111タンパク質に含まれる。この場合のエステルとしては、例えは上記したC末端のエステルなどが用いられる。さらには、本発明におけるG111タンパク質には、上記したタンパク質において、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基（例えは、ホルミル基、アセチルなどのC₁、アルカノイル基などのC_n、アシル基など）で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの。分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基（例えは、-OH、-SH、アミノ基、イミダゾール基、インドール基、グアニシノ基など）が適当な保護基（例えは、ホルミル基、アセチルなどのC₁、アルカノイル基などのC_n、アシル基など）で保護されているもの。あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖タンパク質などの複合タンパク質なども含まれる。本発明におけるG111タンパク質の具体例としては、例えは、配列番号：

10、11、13。15または17で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質などが用いられる。

【0010】本発明におけるG111タンパク質の部分ペプチド（以下、部分ペプチドと略記する場合がある）としては、上記したG111タンパク質の部分ペプチドであれば何れのものであってもよい。本発明における部分ペプチドのアミノ酸の数は、上記したG111タンパク質の構成アミノ酸配列のうち少なくとも20個以上、好ましくは50個以上、より好ましくは100個以上のアミノ酸配列を含有するペプチドなどが好ましい。実質的に同一のアミノ酸配列とは、これらアミノ酸配列と約50%以上、好ましくは約60%以上、より好ましくは約70%以上、さらに好ましくは約80%以上、なかでも好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同意を有するアミノ酸配列を示す。ここで、「実質的に同一の活性」とは、上記と同意義を示す。「実質的に同一の活性」の測定は上記と同様に行なうことができる。

【0011】また、本発明の部分ペプチドは、上記アミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が欠失し、または、そのアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～20個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が付加し、または、そのアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～10個程度、より好ましくは数個、さらに好ましくは1～5個程度）のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されていてもよい。また、本発明の部分ペプチドはN末端がカルボキシル基（-COOH）、カルボキシレート（-COO⁻）、アミド（-CONH₂）またはエステル（-COOR）の何れであってもよい。さらに、本発明の部分ペプチドには、上記した本発明のG111タンパク質と同様に、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基で保護されているもの、N末端が生体内で切断され生成したG1nがピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基が適当な保護基で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖ペプチドなどの複合ペプチドなども含まれる。本発明のG111タンパク質またはその部分ペプチドの塩としては、鹽または塩基との生理学的に許容される塩が挙げられ、とりわけ生理学的に許容される酸性加塩が好ましい。この様な塩としては、例えば、無機塩（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸）との塩、あるいは有機塩（例えば、酢酸、乙酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リノゴ酸、藤酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸）との塩などが用いられる。

【0012】本発明におけるG111タンパク質またはその塩は、上記した哺乳動物の細胞または組織から公知のタンパク質の精製方法によって製造することもできる

し、後に記載する本発明のG111タンパク質をコードするDNAを含有する形質転換細胞を培養することによつても製造することができる。また、後に記載するタンパク質合成法またはこれに準じて製造することもできる。哺乳動物の組織または細胞から製造する場合、哺乳動物の組織または細胞をホモジナイスした後、懸液などで抽出を行い、該抽出液を逆相クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィーなどのクロマトグラフィーを組み合わせることにより精製単離することができる。

【0013】本発明におけるG111タンパク質もしくはその部分ペプチドまたはその塩またはそのアミド体の合成には、通常市販のタンパク質合成用樹脂を用いることができる。そのような樹脂としては、例えば、クロロメチル樹脂、セドロキシメチル樹脂、ベンズヒドリルアミン樹脂、アミノメチル樹脂、4-ベンジルオキシベンジルアルコール樹脂、4-メチルベンズヒドリルアミン樹脂、PAM樹脂、4-ヒドロキシメチルメチルフェニルアセトアミドメチル樹脂、ポリアクリルアミド樹脂、4-(2'、4'-ジメトキシフェニルセドロキシメチル)フェノキシ樹脂、4-(2'、4'-ジメトキシフェニル-PABA)アミノエチル)フェノキシ樹脂などを挙げることができる。このような樹脂を用い、N-アミノ基と側鎖官能基を適当に保護したアミノ酸を、目的とするタンパク質の配列通りに、公知の各種縮合方法に従い、樹脂上で縮合させる。反応の最後に樹脂からタンパク質を切り出すと同時に各種保護基を除去し、さらに高希釈液中で分子内ジスルフィド結合形成反応を実施し、目的のタンパク質またはそのアミド体を取得する。上記した保護アミノ酸の総合に関しては、タンパク質合成に使用できる各種活性化試薬を用いることができるが、特に、カルボジイミド類がよい。カルボジイミド類としては、DCC、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロリル)カルボジイミドなどが用いられる。これらによる活性化にはラセミ化抑制添加剤（例えば、HOBT₁、HOOB₁）とともに保護アミノ酸を直接樹脂に添加するか、または、対称酸無水物またはHOBT₁エフタルあるいはHOOB₁エステルとしてあらかじめ保護アミノ酸の活性化を行なった後に樹脂に添加することができる。

【0014】保護アミノ酸の活性化や樹脂との総合に用いられる溶媒としては、タンパク質総合反応に使用しうることが知られている溶媒から選択される。例えば、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドンなどの酰アミド類、塩化メチレン、クロロホルムなどのハロゲン化炭化水素類、トリフルオロエタノールなどのアルコール類、ジメチルスルホキシドなどのスルホキシド類、ビリジン、ジオキサン、テトラヒドロフランなどのエーテル類、アセトニトリル、プロピオニトリルなどのニトリル類、酢酸メチル、酢酸エチルなどのエステル類あるいは

これらの適宜の混合物などが用いられる。反応温度はタンパク質結合形成反応に使用され得ることが知られている範囲から適宜選択され、通常約-20°C~50°Cの範囲から適宜選択される。活性化されたアミノ酸誘導体は通常1, 5~4倍過剰で用いられる。ニンヒドリン反応を用いたテストの結果、結合が不十分な場合には保護基の脱離を行うことなく結合反応を繰り返すことにより十分な結合を行うことができる。反応を繰り返しても十分な結合が得られないときには、無水酢酸またはアセチルオキシダゾールを用いて未反応アミノ酸をアセチル化することができる。

【0015】原料のアミノ基の保護基としては、例えば、Z、Boc、ターシャリーベンチルオキシカルボニル、イソボルニルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、C1-Z、Bz-Z、アダマンチルオキシカルボニル、トリフルオロアセチル、フタルイル、ホルミル、2-ニトロフェニルスルフェニル、ジフェニルホスフィノチオイル、Fmocなどが用いられる。カルボキシル基は、例えば、アルキルエステル化（例えば、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ターシャリーブチル、シクロヘキシル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、2-アダマンチルなどの直鎖状、分枝状もしくは環状アルキルエステル化）、アラルキルエステル化（例えば、ベンジルエステル、4-ニトロベンジルエステル、4-メトキシベンジルエステル、4-クロロベンジルエステル、ベンズヒドリルエステル化）、フェナントレステル化、ベンジルオキシカルボニルヒドライド化、ターシャリーブチキカルボニルヒドライド化、トリチルヒドライド化などによって保護することができる。セリンの本體基は、例えば、エステル化またはエーカル化によって保護することができる。このエステル化に適する基としては、例えば、アセチル基などの酸性アルカノイル基、ベンゾイル基などのアロイアル基、ベンジルオキシカルボニル基、エトキシカルボニル基などの脱離から誘導される基などが用いられる。また、エーカル化に適する基としては、例えば、ベンジル基、テトラヒドロビラニル基、ヒーブチル基などである。チロシンのフェノール性水酸基の保護基としては、例えば、Bz-I、C1-I、Bz-I、2-ニトロベンジル、Bz-Z、ターシャリーブチルなどが用いられる。ヒスチジンのイミダゾールの保護基としては、例えば、Tos、4-メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルホニル、DNP、ベンジルオキシメチル、Bom、Boc、Trt、Fmocなどが用いられる。

【0016】原料のカルボキシル基の活性化されたものとしては、例えば、対応する酸無水物、アジド、活性エステル【アルコール（例えば、ベンタクロロフェノール、2, 4, 5-トリクロロフェノール、2, 4-ジエトロフェノール、シアノメチルアルコール、バラニトロフェノール、HONB、N-ヒドロキシスクシミド、N

-ヒドロキシタルイミド、HOBO）とのエステル】などが用いられる。原料のアミノ基の活性化されたものとしては、例えば、対応するリン酸アミドが用いられる。保護基の除去（脱離）方法としては、例えば、Pd-黒あるいはPd-炭素などの触媒の存在下での水素気流中の接触還元や、また、無水フッ化水素、メタансルホン酸、トリフルオロメタンスルホン酸、トリフルオロ酢酸あるいはこれらの混合液などによる酸処理や、ジイソプロピルエチルアミン、トリエチルアミン、ビペリジン、ビペラジンなどによる塩基処理、また液体アンモニア中ナトリウムによる還元なども用いられる。上記酸処理による脱離反応は、一般に約-20°C~40°Cの温度で行なわれるが、酸処理においては、例えば、エノール、フェノール、チオエノール、メタクレゾール、パラクレゾール、ジメチルスルフィド、1, 4-ブタンジオール、1, 2-エタンジオールなどのようなカチオン捕捉剤の添加が有効である。また、ヒスチジンのイミダゾール保護基として用いられる2, 4-ジエトロフェニル基はオフェノール処理により除去され、トリブロファンのインドール保護基として用いられるホルミル基は上記の1, 2-エタンジオール、1, 4-ブタンジオールなどの存在下の酸処理による脱保護以外に、希水酸化ナトリウム溶液、希アンモニアなどによるアルカリ処理によても除去される。

【0017】原料の反応に關与すべきでない官能基の保護ならびに保護基、およびその保護基の脱離、反応に關与する官能基の活性化などは公知の基または公知の手段から適宜選択しうる。タンパク質のアミド体を得る別の方法としては、例えば、まず、カルボキシ末端アミノ酸のα-カルボキシル基をアミド化して保護した後、アミノ基側にペプチド（タンパク質）鎖を所望の鎖長まで延ばした後、該ペプチド鎖のN末端のα-アミノ基の保護基のみを除いたタンパク質とC末端のカルボキシル基の保護基のみを除去したタンパク質を製造し、この両タンパク質を上記したような混合溶媒中で結合させる。結合反応の詳細については上記と同様である。結合により得られた保護タンパク質を精製した後、上記方法によりすべての保護基を除去し、所望の粗タンパク質を得ることができる。この粗タンパク質は既知の各種精製手段を駆使して精製し、主要画分を凍結乾燥することで所望のタンパク質のアミド体を得ることができる。タンパク質のエステル体を得るには、例えば、カルボキシ末端アミノ酸のα-カルボキシル基を所望のアルコール類と結合しアミノ酸エ斯特とした後、タンパク質のアミド体と同様にして、所望のタンパク質のエ斯特体を得ることができる。

【0018】本発明におけるG1-Iタンパク質の部分ペプチドまたはその纏は、公知のペプチドの合成法に従って、あるいは本発明におけるG1-Iタンパク質を適當なペプチダーゼで切断することによって製造すること

ができる。ペプチドの合成法としては、例えば、翻相合成法、液相合成法のいずれによっても良い。すなわち、本発明のタンパク質を構成し得る部分ペプチドもしくはアミノ酸と残余部分とを総合させ、生成物が保護基を有する場合は保護基を脱離することにより目的のペプチドを製造することができる。公知の総合方法や保護基の脱離としては、例えば、以下の①～⑩に記載された方法が挙げられる。

- ①M. Bodanszky より U.S. Patent, ペプチドシンセシス (Peptide Synthesis), Interscience Publisher s, New York (1956年)
- ②Schroeder より U.S. Patent, ザ ペプチド(The Peptide), Academic Press, New York (1965年)
- ③泉屋信夫他、ペプチド合成の基礎と実験、丸善(株) (1975年)
- ④矢島治明 および 植原俊平、生化学実験講座 1、タンパク質の化学IV, 205, (1977年)
- ⑤矢島治明監修、統括薬品の開発 第14巻 ペプチド合成 広川義房

また、反応後は通常の精製法、例えば、溶媒抽出・蒸留・カラムクロマトグラフィー・液体クロマトグラフィー・再結晶などを組み合わせて本発明の部分ペプチドを精製単離することができる。上記方法で得られる部分ペプチドが遊離体である場合は、公知の方法によって適当な塩に変換することができるし、逆に塩で得られた場合は、公知の方法によって遊離体に変換することができます。

【0019】本発明におけるG111タンパク質をコードするポリスクレオチドとしては、上記した本発明におけるG111タンパク質をコードする塩基配列(DNAまたはRNA、好ましくはDNA)を含有するものであればいかなるものであってもよい。該ポリスクレオチドとしては、本発明におけるG111タンパク質をコードするDNA、mRNA等のRNAであり、二本鎖であっても、一本鎖であってもよい。二本鎖の場合には、二本鎖DNA、二本鎖RNAまたはDNA:RNAのハイブリッドでもよい。一本鎖の場合には、センス鎖(すなわち、コード鎖)であっても、アンチセンス鎖(すなわち、非コード鎖)であってもよい。本発明におけるG111タンパク質をコードするポリスクレオチドを用いて、例えば、実験医学雑誌「新PCRとその応用」15(7), 1997記載の公知の方法またはそれに準じた方法により、G111タンパク質のmRNAを定量することができる。G111タンパク質をコードするDNAとしては、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、上記した細胞・組織由来のcDNA、上記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。ライブラリーに使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、上記した細胞・組織よりtotal RNAまた

はmRNA画分を調製したもの用いて直撃Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction(以下、RT-PCR法と略称する)によって増幅することもできる。具体的には、G111タンパク質をコードするDNAとしては、例えば、配列番号：9、12、14、16または18で表わされる塩基配列を含有するDNA、または配列番号：9、12、14、16または18で表わされる塩基配列とハイストリングジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、本発明のG111タンパク質と実験的に同質の活性(例、転写活性や骨・軟骨分化誘導作用など)を有するG111タンパク質をコードするDNAであれば何れのものでもよい。配列番号：9、12、14、16または18で表わされる塩基配列とハイブリダイズできるDNAとしては、例えば、配列番号：9、12、14、16または18で表わされる塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

【0020】ハイブリダイゼーションは、公知の方法あるいはそれに準じる方法、例えば、モレキュラー・クローニング(Molecular Cloning) 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989)に記載の方法などに従って行うことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方針に従って行うことができる。より好ましくは、ハイストリングジェントな条件に従って行うことができる。該ハイストリングジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が約1.9～4.0 mM、好ましくは約1.9～2.0 mMで、温度が約5.0～7.0°C、好ましくは約6.0～6.5°Cの条件を示す。特に、ナトリウム濃度が約1.9 mMで温度が約6.5°Cの場合が最も好ましい。より具体的には、配列番号：10で表わされるアミノ酸配列を含有するG111タンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：9で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。配列番号：11で表わされるアミノ酸配列を含有するG111タンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：12で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。配列番号：13で表わされるアミノ酸配列を含有するG111タンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：14で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。配列番号：15で表わされるアミノ酸配列を含有するG111タンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：16で表わされるアミノ酸配列を含有するG111タンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：18で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。本発明におけるG111タンパク質をコードするDNAの塩基配列の一部、または該DNAと相補的な

塩基配列の一部を含有してなるポリヌクレオチドとは、下記の本発明の部分ペプチドをコードするDNAを包含するだけではなく、RNAをも包含する意味で用いられる。本発明に従えば、G 1 † 1 タンパク質遺伝子の複製または発現を調節することのできるアンチセンス・ポリヌクレオチド（核酸）を、クローン化した、あるいは決定されたG 1 † 1 タンパク質をコードするDNAの塩基配列情報に基づき設計し、合成しうる。こうしたポリヌクレオチド（核酸）は、G 1 † 1 タンパク質遺伝子のRNAとハイブリダイズすることができ、該RNAの合成または機能を阻害することができるか。あるいはG 1 † 1 タンパク質関連RNAとの相互作用を介してG 1 † 1 タンパク質遺伝子の発現を調節・制御することができ。G 1 † 1 タンパク質関連RNAの選択された配列に相補的なポリヌクレオチド、およびG 1 † 1 タンパク質関連RNAと特異的にハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドは、生体内および生体外でG 1 † 1 タンパク質遺伝子の発現を調節・抑制するのに有用であり、また病気などの治療または診断に有用である。用語「対応する」とは、遺伝子を含めたスクレオチド、塩基配列または核酸の特定の配列に相間性を有するあるいは相補的であることを意味する。スクレオチド、塩基配列または核酸とペプチド（タンパク質）との間で「対応する」とは、スクレオチド（核酸）の配列またはその相補体から誘導される結合にあるペプチド（タンパク質）のアミノ酸を通常指している。G 1 † 1 タンパク質遺伝子の5' 端ヘアピンループ、5' 端6-ペースペア・リピート、5' 端非翻訳領域、ポリペプチド翻訳開始コドン、タンパク質コード領域、翻訳終止コドン、3' 端非翻訳領域、3' 端バリンドローム領域、および3' 端ヘアピンループは好ましい対象領域として選択しうるが、G 1 † 1 タンパク質遺伝子内の如何なる領域も対象として選択しうる。

【0021】目的核酸と、対象領域の少なくとも一部に相補的なポリヌクレオチドとの関係、即ち対象物とハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドとの関係は、「アンチセンス」であるといふことができる。アンチセンス・ポリヌクレオチドは、2-デオキシ-D-リボースを含有しているポリデオキシヌクレオチド、D-リボースを含有しているポリデオキシヌクレオチド、プリンまたはビリミジン塩基のN-グリコシドであるその他のタイプのポリヌクレオチド、あるいは非ヌクレオチド骨格を有するその他のオリマー（例えば、南脇のタンパク質核酸および合成配列特異的な核酸ポリマー）または特殊な結合を有するその他のオリマー（但し、該オリマーはDNAやRNA中に見出されるような塩基のペアリングや塩基の付着を許容する配列をもつヌクレオチドを含有する）などが挙げられる。それらは、二本鎖DNA、一本鎖DNA、一本鎖RNA、一本鎖RNA、さらにDNA:RNAハイブリッドであることができ、さ

らに非修飾ポリヌクレオチド（または非修飾オリゴヌクレオチド）、さらには公知の修飾の付加されたもの、例えば当該分野で知られた標識のあるもの、キャップの付いたもの、メチル化されたもの、1個以上の天然のスクレオチドを類縁物で置換したもの、分子内スクレオチド修飾のされたもの、例えば非糖電結合（例えば、メチルホスホネート、ホスホトリエスチル、ホスホルアミヂート、カルバメートなど）を持つもの、電荷を有する結合または硫黄含有結合（例えば、ホスホロチオエート、ホスホジチオエートなど）を持つもの、例えばタンパク質（スクレアーゼ、ヌクレアーゼ、インヒビター、トキシン、抗体、シグナルペプチド、ポリーレーリジンなど）や糖（例えば、モノサッカライドなど）などの側鎖基を有しているもの、インクータカレント化合物（例えば、アクリジン、ソラレンなど）を持つもの、キレート化合物（例えば、金属、放射活性をもつ金属、ホウ素、陰化性の金属など）を含有するもの、アルキル化剤を含有するもの、修飾された結合を持つもの（例えば、ヌアノマー型の核酸など）であってもよい。ここで「ヌクレオシド」、「スクレオチド」および「核酸」とは、プリンおよびビリミジン塩基を含有するのみでなく、修飾されたその他の複素環型塩基をもつようなものを含んでいて良い。こうした修飾物は、メチル化されたプリンおよびビリミジン、アンシリ化されたプリンおよびビリミジン、あるいはその他の機素環を含むものであってよい。修飾されたスクレオチドおよび修飾されたスクレオチドはまた糖部分が修飾されていてよく。例えば、1糖以上の水酸基がハロゲンとか、脂族族基などで置換されたり、あるいはエーテル、アミンなどの官能基に変換されていてよい。

【0022】本発明のアンチセンス・ポリヌクレオチド（核酸）は、RNA、DNA、あるいは修飾された核酸（RNA、DNA）である。修飾された核酸の具体例としては核酸の硫酸誘導体やチオホスフェート誘導体、そしてポリヌクレオシドアミドやオリゴヌクレオシドアミドの分離に抵抗性のものが挙げられるが、それに限定されるものではない。本発明のアンチセンス核酸は次のような方針で好ましく設計されうる。すなわち、細胞内でのアンチセンス核酸をより安定なものにする、アンチセンス核酸の細胞透過性をより高める、目標とするセンス鎖に対する親和性をより大きなものにする、そしてもし毒性があるならアンチセンス核酸の毒性をより小さなものにする。こうして修飾は当該分野で数多く知られており、例えば J. Kawakami et al., Pharm Tech Japan, Vol. 1, 8, pp. 247, 1992; Vol. 8, pp. 395, 1992; S. T. Orourke et al. ed., Antisense Research and Applications, CRC Press, 1993などに開示がある。本発明のアンチセンス核酸は、変化せしめられたり、修飾された糖、塩基、結合を有していて良く、リボゾーム、マイクロスフェアのような特殊な形態で供与されたり、遺伝子治療

により適用されたり、付加された形態で与えられることができうる。こうして付加形態で用いられるものとしては、リン酸基骨格の繊維を中和するように働くポリジンのようなポリカチオン体、細胞膜との相互作用を高めたり、核酸の取り込みを増大せしめるような脂質（例えば、ホスホリビド、コレステロールなど）といった疎水性のものが挙げられる。付加するに好ましい脂質としては、コレステロールやその誘導体（例えば、コレステリルクロロホルム、コール酸など）が挙げられる。こうしたものは、核酸の3'端あるいは5'端に付着させることができ、核酸、糖、分子内メクレオシド結合を介して付着させることができうる。その他の基としては、核酸の3'端あるいは5'端に特異的に配置されたキャップ用の基で、エキソヌクレアーゼ、RNaseなどのスクレアーゼによる分解を阻止するためのものが挙げられる。こうしたキャップ用の基としては、ポリエチレンギリコール、デトラエチレングリコールなどのグリコールをはじめとした当該分野で知られた水酸基の保護基が挙げられるが、それに限らずされるものではない。アンチセレス核酸の翻訳活性は、G 111 遺伝子またはG 111 遺伝子を含有する組換えベクターを含有する形質転換体、生体内や生体外の遺伝子発現系、あるいはG 111 タンパク質の生体内や生体外の翻訳系を用いて調べることができる。該核酸は公知の各種の方法で細胞に適用できる。

【0023】本発明における部分ペプチドをコードするDNAとしては、上記した本発明の部分ペプチドをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、上記した細胞・組織由来のcDNA、上記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。ライブラリーに使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、上記した細胞・組織よりmRNA画分を調製したものを用いて直接Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

(以下、RT-PCR法と略称する)によって増幅することもできる。具体的には、本発明の部分ペプチドをコードするDNAとしては、例えば、(1) 配列番号：9、12、14、16または18で表わされる塩基配列を含有するDNAの部分塩基配列を含有するDNA、または(2) 配列番号：9、12、14、16または18で表わされる塩基配列を含有するDNAとハイストリングエントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を含有し、本発明のG 111 タンパク質と実質的に同質の活性（例、転写活性や骨・軟骨分化誘導作用など）を有するG 111 タンパク質をコードするDNAの部分塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。より具体的には、本発明の部分ペプチドをコードするDNAとしては、例えば、(1) 配列番号：9、12、14、16または1

8で表わされる塩基配列を含有するDNAの部分塩基配列を含有するDNA、または(2) 配列番号：9、12、14、16または18で表わされる塩基配列を含有するDNAとハイストリングエントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を含有し、本発明におけるG 111 タンパク質と実質的に同質の活性を有するタンパク質をコードするDNAの部分塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。配列番号：9、12、14、16または18で表わされる塩基配列を含有するDNAとハイブリダイズできるDNAとしては、例えば、配列番号：9、12、14、16または18で表わされる塩基配列と約70%以上、より好ましくは約80%以上、最も好ましくは約90%以上の相間性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。また、配列番号：9、12、14、16または18で表わされる塩基配列を含有するDNAとハイブリダイズできるDNAとしては、例えば、配列番号：9、12、14、16または18で表わされる塩基配列と約70%以上、より好ましくは約80%以上、最も好ましくは約90%以上の相間性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

【0024】本発明におけるG 111 タンパク質またはその部分ペプチド（以下、本発明のタンパク質と略記する場合がある）を完全にコードするDNAのクローニングの手段としては、本発明のタンパク質の部分塩基配列を含有する合成DNAプライマーを用いてPCR法によって增幅するか、または適当なベクターに組み込んだDNAを本発明のタンパク質の一部あるいは全領域をコードするDNA断片もしくは合成DNAを用いて標識したものとのハイブリダイゼーションによって選別することができる。ハイブリダイゼーションの方法は、例えば、モレキュラー・クローニング（Molecular Cloning）2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989)に記載の方法などに従って行うことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行うことができる。

【0025】DNAの塩基配列の翻訳は、PCRや公知のキット、例えば、*Kuton*TM-superExpress Ks (宝酒造)、*Muton*TM-K (宝酒造)等を用いて、QIA-PCR法、gapped duplex法、Kunkel法等の公知の方法あるいはそれらに準じる方法に従って行うことができる。クローニ化された本発明のタンパク質をコードするDNAは目的によりそのまま、または所望により細胞液で消化したり、リンクーを付加したりして使用することができる。該DNAはその5'末端側に翻訳開始コドンとしてのATGを有し、また3'末端側には翻訳終止コドンとしてのTAA、TGAまたはTAGを有していてもよい。これらの翻訳開始コドンや翻訳終止コドンは、適当な合成DNAアダプターを用いて付加することもできる。本発明のタンパク質の発現ベクターは、例えば、

(イ) 本発明のタンパク質をコードするDNAを含む、例えばcDNAから目的とするDNA断片を切り出し、(ロ) 該DNA断片を適当な発現ベクター中のプロモーターの下流に連結することにより製造することができる。

【0026】ベクターとしては、大腸菌由来のプラスミド(例、pCR4、pCR2.1、pBR322、pBR325、pUC12、pUC13)、枯草菌由来のプラスミド(例、pUB110、pTP5、pC19-4)、酵母由来プラスミド(例、pSH49、pSH1-5)、λファージなどのバクテリオファージ、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、バキュロウイルスなどの動物ウイルスなどの他、pAI-11、pXT1、pRC/CMV、pRC/RSV、pcdNA1/Neoなどが用いられる。本発明で用いられるプロモーターとしては、遺伝子の発現に用いる宿主に対応して適切なプロモーターであればいかなるものでもよい。例えば、動物細胞を宿主として用いる場合は、SRαプロモーター、SV40プロモーター、LTRプロモーター、CMVプロモーター、HSV-TKプロモーターなどが挙げられる。これらのうち、CMVプロモーター、SRαプロモーターなどを用いるのが好ましい。宿主がエシェリヒア属菌である場合は、trpプロモーター、lacプロモーター、tacプロモーターなどが、宿主がバチルス属菌である場合は、SPO1プロモーター、SPO2プロモーター、pewPプロモーターなど、宿主が酵母である場合は、PHO5プロモーター、PGKプロモーター、GAPプロモーター、ADHプロモーターなどが好ましい。宿主が昆虫細胞である場合は、ボリヘドリンプロモーター、P10プロモーターなどが好ましい。

【0027】発現ベクターには、以上の他に、所望によりエンハンサー、スプライシングシグナル、ボリA付加シグナル、選択マーカー、SV40複製オリジン(以下、「SV40 ori」と略称する場合がある)などを含有しているものを用いることができる。選択マーカーとしては、ジヒドロ葉酸還元酵素(以下、「dfr」と略称する場合がある)遺伝子(メソトレキセート(MTX)耐性)、アンピシリン耐性遺伝子(以下、「Amp^rと略称する場合がある)、ネオマイシン耐性遺伝子(以下、「Neo^rと略称する場合がある)、G418耐性等が挙げられる。特に、CHO(k1)細胞を用いてdfr遺伝子を選択マーカーとして使用する場合、目的遺伝子をチミンを含まない培地によっても選択できる。また、必要に応じて、宿主に合ったシグナル配列を、本発明のタンパク質のN端側に付加する。宿主がエシェリヒア属菌である場合は、PhoA・シグナル配列、ompA・シグナル配列などが、宿主がバチルス属菌である場合は、α-アミラーゼ・シグナル配列、サブチリシン・シグナル配列などが、宿主が酵母で

ある場合は、MFα・シグナル配列、SUC2・シグナル配列など、宿主が動物細胞である場合には、インシクリン・シグナル配列、α-インターフェロン・シグナル配列、抗体分子・シグナル配列などがそれぞれ利用できる。このようにして構築された本発明のタンパク質をコードするDNAを含有するベクターを用いて、影響転換体を製造することができる。

【0028】宿主としては、例えば、エシェリヒア属菌、バチルス属菌、酵母、昆虫細胞、昆虫、動物細胞などが用いられる。エシェリヒア属菌の具体例としては、エシェリヒア・コリ(Escherichia coli) K12・DH1(プロシージングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーニティード・ Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.), 60巻, 160(1983)、JM103(スクイレック・アシックス・リサーチ、Nucleic Acids Research), 9巻, 309(1981)、JA221(ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー(Journal of Molecular Biology), 120巻, 517(1978))、HB101(ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー, 41巻, 459(1989))、C600(ジェネティックス(Genetics), 39巻, 440(1954))、DH5α(Iino, H., Nojima, H. and Okamoto, H., Gene, 96, 23-28(1990))、DH10B(プロシージングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーニティード(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.), 87巻, 4645-4649(1990))などが用いられる。バチルス属菌としては、例えば、バチルス・サブチリス(Bacillus subtilis) M1114(ジーン, 24巻, 255(1983)), 207-21(ジャーナル・オブ・バイオケミストリー(Journal of Biochemistry), 96巻, 87(1984))などが用いられる。酵母としては、例えば、サッカロマイセス・セレビシエ(Saccharomyces cerevisiae) AH22, AH22R', NA87-11A, DKD-6D, 20B-12、シゾサッカロマイセス・ポンベ(Schizosaccharomyces pombe) NCYC1913, NCYC2036、ビキア・ペストリス(Pichia pastoris)などが用いられる。

【0029】昆虫細胞としては、例えば、ウイルスがAcNPVの場合は、夜蛾の幼虫由来株化細胞(Spodoptera frugiperda cell; Sf細胞)、Trichoplusia niの中腸由来のMG1細胞、Trichoplusia niの卵由来の*Ig* FiveTM細胞、家蚕由来の細胞または*Estigmene acrea*由来の細胞などが用いられる。ウイルスがBmNPVの場合は、蠶由来株化細胞(Bombyx mori; BmN細胞)などが用いられる。該Sf細胞としては、例えば、Sf9細胞(ATCC CRL1711)、Sf21細胞(以上、Vaughn, J.L.ら、イン・ヴィブ(In Vitro), 13, 213-217, (1977))などが用いられる。昆虫とし

では、例えば、カイコの幼虫などが用いられる（前田ら、ネイチャー（Nature）, 315巻, 592(1985)）。動物細胞としては、例えば、サル細胞COS-7, Vero, チャイニーズヘムスター細胞CHO（以下、CHO細胞と略記）、dhfr遺伝子欠損チャイニーズヘムスター細胞CHO（以下、CHO（dhfr⁻）細胞と略記）、マウスL細胞、マウスA3T-20、マウスミエローマ細胞、ラットGH3、ヒトEL細胞などが用いられる。

【0030】エシェリヒア属菌を形質転換するには、例えば、プロシージングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユニ・エスエー（Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.），69巻, 2110(1972)やジーン（Gene），17巻, 107(1982)などに記載の方法に従って行うことができる。バチルス属菌を形質転換するには、例えば、モレキュラーアンド・ジェネラル・ジェネティックス（Molecular & General Genetics），168巻, 111(1979)などに記載の方法に従って行うことができる。酵母を形質転換するには、例えば、マクス・イン・エンザイモロジー（Methods in Enzymology），194巻, 182-187(1991)、プロシージングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユニ・エスエー（Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.），75巻, 1929(1978)などに記載の方法に従って行うことができる。昆虫細胞または昆蟲を形質転換するには、例えば、バイオ/テクノロジー（Bio/Technology），6, 47-55(1988)などに記載の方法に従って行うことができる。動物細胞を形質転換するには、例えば、細胞工学別冊8新細胞工学実験プロトコール, 263-267(1995)（秀潤社発行）、ヴィロロジー（Virology），52巻, 456(1973)に記載の方法に従って行うことができる。このようにして、G111タンパク質をコードするDNAを含有する発現ベクターで形質転換された形質転換体が得られる。宿主がエシェリヒア属菌、バチルス属菌である形質転換体を培養する際、培養に使用される培地としては液体培地が適当であり、その中には該形質転換体の生育に必要な炭素源、窒素源、無機物その他が含められる。炭素源としては、例えば、グルコース、デキストリン、可溶性澱粉、ショ糖など、窒素源としては、例えば、アンモニウム塩類、硝酸塩類、コーンスチーブ・リカー、ペプトン、カゼイン、肉エキス、大豆粕、パライシド抽出液などの無機または有機物質、無機物としては、例えば、塩化カルシウム、リン酸二水素ナトリウム、塩化マグネシウムなどが挙げられる。また、酵母エキス、ビタミン類、生長促進因子などを添加してもよい。培地のpHは約5～8が適当しい。

【0031】エシェリヒア属菌を培養する際の培地としては、例えば、グルコース、カザミノ酸を含むM9培地

（ミラー（Miller）、ジャーナル・オブ・エクスペリメンツ・イン・モレキュラー・ジェネティックス（Journal of Experiments in Molecular Genetics），431-433, Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1972）が好ましい。ここに必要によりプロモーターを効率よく働かせるために、例えば、3ヨードトリルアクリル酸のような薬剤を加えることができる。宿主がエシェリヒア属菌の場合、培養は通常約15～43°Cで約3～24時間行い、必要により、通気や攪拌を加えることもできる。宿主がバチルス属菌の場合、培養は通常約30～40°Cで約6～24時間行い、必要により通気や攪拌を加えることもできる。宿主が酵母である形質転換体を培養する際、培地としては、例えば、バーグホルダー（Berkhielder）最小培地（Berkhielder, K. L. ら、プロシージングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユニ・エスエー（Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.），77巻, 4506(1980)）や0.6%カザミノ酸を含有するSD培地（Bitter, G. A. ら、プロシージングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユニ・エスエー（Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.），81巻, 5330(1984)）が挙げられる。培地のpHは約5～8に調整するのが好ましい。培養は通常約20°C～35°Cで約24～72時間行い、必要に応じて通気や攪拌を加える。

【0032】宿主が昆蟲細胞または昆蟲である形質転換体を培養する際、培地としては、Grace's Insect Medium (Grace, T.C.C., ネイチャー（Nature）, 195, 789(1963)に非動化した10%ウシ血清等の添加物を適宜加入了のなどが用いられる。培地のpHは約6.2～6.4に調整するのが好ましい。培養は通常約27°Cで約3～5日間行い、必要に応じて通気や攪拌を加える。宿主が動物細胞である形質転換体を培養する際、培地としては、例えば、約5～20%の胎児牛血清を含むMEM培地（サイエンス（Science），122巻, 501(1962)）、DME/M培地（ヴィロロジー（Virology），8巻, 396(1959)）、 RPMI 1640培地（ジャーナル・オブ・ザ・アメリカン・メディカル・アソシエーション（The Journal of the American Medical Association），199巻, 519(1967)）、199培地（プロシージング・オブ・ザ・メサイエティ・フォーリ・ザ・バイオロジカル・メディシン（Proceeding of the Society for the Biological Medicine），73巻, 1(1950)）などが用いられる。pHは約6～8であるのが好ましい。培養は通常約30°C～40°Cで約15～60時間行い、必要に応じて通気や攪拌を加える。以上のようにして、形質転換体の細胞内、細胞膜または細胞外に本発明のタンパク質を生成せしめることができる。

【0033】上記培養物から本発明のタンパク質を分離精製するには、例えば、下記の方法により行うことができる。

きる。本発明のタンパク質を培養菌体あるいは細胞から抽出するに際しては、培養後、公知の方法で菌体あるいは細胞を集め、これを適当な緩衝液に懸濁し、超音波、リゾームおよび／または凍結融解などによって菌体あるいは細胞を破壊したのち、遠心分離やろ過によりタンパク質の粗抽出液を得る方法などが適宜用いられる。緩衝液の中に尿素や塩酸グアニジンなどのタンパク質変性剤や、トリントンエー100[®]などの界面活性剤が含まれていてもよい。培養液中にタンパク質が分泌される場合には、培養終了後、公知の方法で菌体あるいは細胞と上清とを分離し、上清を集め。このようにして得られた培養上清、あるいは抽出液中に含まれるタンパク質の精製は、公知の分離・精製法を適切に組み合わせて行うことができる。これらの公知の分離・精製法としては、塩析や溶媒沈澱法などの溶解度を利用する方法、透析法、膜外ろ過法、ゲルろ過法、および SDS-ポリアクリルアミドグル電気泳動法などの主として分子量の差を利用する方法、イオン交換クロマトグラフィーなどの荷電の差を利用する方法、アフィニティクロマトグラフィーなどの特異的親和性を利用する方法、逆相高速液体クロマトグラフィーなどの疎水性の差を利用する方法、等電点電気泳動法などの等電点の差を利用する方法などが用いられる。

【0034】このようにして得られるタンパク質が遊離体で得られた場合には、公知の方法あるいはそれに準じる方法によって菌に変換することができ、逆に菌で得られた場合には公知の方法あるいはそれに準じる方法により、遊離体または菌の菌に変換することができる。なお、組換え体が産生するタンパク質を、精製前または精製後に適当なタンパク質修飾酵素を作用させることにより、任意に修飾を加えたり、ポリペプチドを部分的に除去することもできる。タンパク質修飾酵素としては、例えば、トリプシン、キモトリプシン、アルギニルエンドペプチダーゼ、プロテインキナーゼ、グリコシダーゼなどが用いられる。このようにして生成する本発明のG1+1タンパク質またはその他の活性は、例えばG1+1結合配列を持つ二本鎖DNAへの結合能等を指標に測定することができる。

【0035】本発明におけるG1+1タンパク質もしくはその部分ペプチドまたはその他の活性に対する抗体は、本発明におけるG1+1タンパク質もしくはその部分ペプチドまたはその他の活性を認識し得る抗体であれば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体の何れであってもよい。本発明におけるG1+1タンパク質もしくはその部分ペプチドまたはその他の活性（以下、本発明のタンパク質等を抗原として用い、公知の抗体または抗血清の製造法に従って製造することができる）に対する抗体は、本発明のタンパク質等を抗原として用い、公知の抗体または抗血清の製造法に従って製造することができる。

【0036】【モノクローナル抗体の作製】

(a) モノクローナル抗体産生細胞の作製

本発明のタンパク質等は、哺乳動物に対して投与により抗体産生が可能な部位にそれ自体あるいは担体、希釈剤とともに投与される。投与に際して細胞産生能を高めるため、完全フロイントアジュvantや不完全フロイントアジュvantを投与してもよい。投与は通常2～6週毎に1回ずつ、計2～10回程度行なわれる。用いられる哺乳動物としては、例えば、サル、ウサギ、イス、モルモット、マウス、ラット、ヒツジ、ヤギが挙げられるが、マウスおよびラットが好ましく用いられる。モノクローナル抗体産生細胞の作製に際しては、抗原を免疫された温血動物、例えば、マウスから抗体価の認められた側体を選択し最終免疫の2～5日後に脾臓またはリンパ節を採取し、それらに含まれる抗体産生細胞を骨髄細胞と融合させることにより、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマを調製することができる。抗血清中の抗体価の測定は、例えば、後記の糖基化タンパク質等と抗血清とを反応させたのも、抗体に結合した標識剤の活性を測定することにより行なうことができる。融合操作は既知の方法、例えば、ケーラーとミルスタイルの方法（ネイチャー（Nature），256巻、495頁（1975年））に従い実施することができる。融合促進剤としては、例えば、ポリエチレングリコール（PEG）やセンドライウイルスなどが挙げられるが、好ましくはPEGが用いられる。骨髄細胞としては、例えば、NS-1、P3U1、SP2/0などが挙げられるが、P3U1が好ましく用いられる。用いられる抗体産生細胞（脾臓細胞）数と骨髄細胞数との好ましい比率は1：1～20：1程度であり、PEG（好ましくは、PEG1000～PEG6000）が1.0～6.0%濃度の濃度で添加され、約20～40°C。好ましくは約30～37°Cで約1～1.0分間インキュベートすることにより効率よく細胞融合を実施できる。

【0037】モノクローナル抗体産生ハイブリドーマのスクリーニングには種々の方法が使用できるが、例えば、タンパク質等の抗原を直接あるいは担体とともに曝露させた固相（例、マイクロプレート）にハイブリドーマ培養上清を添加し、次に放射性物質や酵素などで標識した抗免疫グロブリン抗体（細胞融合に用いられる細胞がマウスの場合、抗マウス免疫グロブリン抗体が用いられる）またはプロテインAを加え、固相に結合したモノクローナル抗体を検出する方法、抗免疫グロブリン抗体またはプロテインAを吸着させた固相にハイブリドーマ培養上清を添加し、放射性物質や酵素などで標識したタンパク質等を加え、固相に結合したモノクローナル抗体を検出する方法などが挙げられる。モノクローナル抗体の選別は、公知あるいはそれに準じる方法に従って行なうことができるが、通常はHAT（ヒボキサンチン、アミノブテリン、チミジン）を添加した動物細胞用培地などで行なうことができる。選別および育種用培地としては、ハイブリドーマが生育できるものならばどのような培地

を用いても良い。例えば、1～20%、好ましくは10～20%の牛胎児血清を含む RPMI 1640培地、1～10%の牛胎児血清を含むG 1 T培地(株式会社工業(株))またはハイブリドーマ培養用無血清培地(SFM-101、日本製薬(株))などを用いることができる。培養温度は、通常20～40°C、好ましくは約37°Cである。培養時間は、通常5日～3週間、好ましくは1週間～2週間である。培養は、通常5%炭酸ガス下で行うことができる。ハイブリドーマ培養上清の抗体価は、上記の抗血清中の抗体価の測定と同様にして測定できる。

【0038】(b) モノクローナル抗体の精製

モノクローナル抗体の分離精製は、通常のポリクローナル抗体の分離精製と同様に免疫グロブリンの分離精製法(例、塩析法、アルコール沈殿法、等電点沈殿法、電気泳動法、イオン交換法(例、DEAE)による吸脱着法、超遠心法、ゲルろ過法、抗原結合調査またはプロテインAあるいはプロテインGなどの活性吸着剤により抗体のみを採取し、結合を解離させて抗体を得る特異的精製法)に従って行うことができる。

【0039】(ポリクローナル抗体の作製)本発明のポリクローナル抗体は、公知あるいはそれに準じる方法にしたがって製造することができる。例えば、免疫抗原(タンパク質等の抗原)とキャリアータンパク質との複合体をつくり、上記のモノクローナル抗体の製造法と同様に哺乳動物に免疫を行い、該免疫動物から本発明のタンパク質等に対する抗体含有物を採取して、抗体の分離精製を行うことにより製造できる。哺乳動物を免疫するために用いられる免疫抗原とキャリアータンパク質との複合体に關し、キャリアータンパク質の種類およびキャリアーとハブテンとの混合比は、キャリアーに架橋させて免疫したハブテンに対して抗体が効率良くできれば、どのようなものをどの様な比率で架橋させてもよいが、例えば、ウシ血清アルブミン、ウンサイロクロブリン、ギーオール、リンペット・ヘモシアニン等を重量比でハブテン1に対し、約0.1～2.0、好ましくは約1～5の割合でカプルさせる方法が用いられる。また、ハブテンとキャリアーのカブリングには、種々の結合剤を用いることができるが、グルタルアルデヒドやカルボキシミド、マレイミド活性エステル、チオール基、ジテオビリジル基を含有する活性エヌカルボキシム等が用いられる。結合生成物は、温血動物に対して、抗体産生が可能な部位にそれ自体あるいは粗体、希釈剤とともに投与される。投与に際して抗体産生能を高めるため、完全フロイントアジュバントや不完全フロイントアジュバントを投与してもよい。投与は、通常約2～6週毎に1回ずつ、計約3～10回程度行うことができる。ポリクローナル抗体は、上記の方法で免疫された哺乳動物の血清、腹水など、好ましくは血液から採取することができる。抗血清中のポリクローナル抗体価の測定は、上記の血清中の抗

体価の測定と同様にして測定できる。ポリクローナル抗体の分離精製は、上記のモノクローナル抗体の分離精製と同様の免疫グロブリンの分離精製法に従って行うことができる。

【0040】(1) G 111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの塩、または該タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAは骨・軟骨分化誘導剤として有用である。

(2) G 111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの塩、G 111遺伝子DNAもしくはその相補DNAまたはその部分DNAおよびG 111タンパク質またはその部分ペプチドを発現する能力を有する細胞は、G 111遺伝子の発現を抑制する活性を有する化合物、G 111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御する作用を有する化合物、ひいては骨・軟骨分化誘導作用を有する化合物等のスクリーニングに用いることができる。

(3) G 111遺伝子のアンチセンスDNA等は、所謂遺伝子治療剤(骨・軟骨分化阻害剤または骨・軟骨形成過剰症の予防・治療剤)として、または遺伝子診断剤(骨・軟骨疾患の診断剤)などとして有用である。

(4) G 111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの塩の抗体は骨・軟骨疾患の診断剤として有用である。

G 111タンパク質もしくは部分ペプチドまたはその塩(以下、本発明のタンパク質等と略記する場合がある)、G 111タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNA(以下、本発明のDNAと略記する場合がある)、G 111タンパク質等に対する抗体(以下、本発明の抗体と略記する場合がある)、G 111遺伝子のアンチセンスDNAの用途等について、以下に具体的に説明する。

【0041】(1) 骨・軟骨分化誘導剤

①G 111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの塩、または該タンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAは骨・軟骨分化誘導剤などの医薬として使用することができる。例えば、生体内においてG 111タンパク質またはヘッジホッグが減少しているために、またはヘッジホッグによるシグナルが有効に伝達されないためにG 111遺伝子またはその産物による生理作用(転写活性、骨・軟骨分化誘導作用など)が期待できない(該G 111タンパク質の欠乏症)患者がいる場合に。②G 111タンパク質等を疾患者に投与し該タンパク質の量を補充したり、②(イ)本発明のタンパク質をコードするDNAあるいは該DNAを含有する組換えベクターを該患者に投与し発現させることによって、あるいは(ロ)対象となる細胞(例えは、グリア細胞、骨髄細胞、表皮細胞、纖維芽細胞、筋芽細胞、軟骨細胞、骨細胞もしくは骨芽細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞等)に本発明のタンパク質をコードするDNAを

挿入し発現させた後に、該タンパク質を該患者に移植することなどによって、患者の体内におけるG111タンパク質の量を増加させ、軟骨活性、骨・軟骨分化誘導作用を充分に発揮させることができ。すなわち、本発明のタンパク質または該タンパク質をコードするDNAは、安全で低毒性な骨・軟骨分化誘導剤として有用である。本発明のタンパク質または該タンパク質をコードするDNAは骨・軟骨疾患、例えば整形外科領域の疾患（例、骨折、変形性関節症、骨関節炎、半月板損傷等の軟骨損傷、外傷、腫瘍摘出などによる骨、軟骨欠損部の再生、脊椎固定術、脊柱管拡大術などの骨再建、骨形成不全症、軟骨無形成症などの先天性骨・軟骨疾患）、歯科領域の疾患（例、口巣炎、下顎骨再建術、歯槽矯正術などの骨再建）、骨粗鬆症などの予防・治療剤などの医薬として用いることができる。また、美容外科領域における骨移植の治療剤などの医薬としても用いることができるし、再生医療における自家移植の際の分化誘導剤としても利用できる。本発明のタンパク質を上記予防・治療剤として使用する場合は、常套手段に従って製剤化することができる。一方、本発明のタンパク質をコードするDNA（以下、本発明のDNAと略記する場合がある）を上記予防・治療剤として使用する場合は、本発明のDNAを単離あるいはレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルスアソシエーテッドウイルスベクターなどの適当なベクターに挿入した後、常套手段に従って実施することができる。本発明のDNAは、そのままで、あるいは摂取促進のための補助剤とともに、遺伝子錠やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。例えば、①本発明のタンパク質または②該タンパク質をコードするDNAは、必要に応じて被覆を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、③本発明のタンパク質または④該タンパク質をコードするDNAを生理学的に認められる公知の担体、香料剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される基準用薬形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な用量が得られるようにするものである。

【0042】錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えば、ゼラチン、コーンスターク、トライアント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターク、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチエリーのような香料剤などが用いられる。調剤単位形態

がカプセルである場合には、上記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、氯化ナトリウムなど）などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例、エタノール）、ポリアルコール（例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例、ポリブルーベート80%、HCO-50）などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどを併用してもよい。

【0043】また、上記予防・治療剤は、例えば、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、緩化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填される。このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、哺乳動物（例、ヒト、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イス、サルなど）に対して投与することができる。本発明のタンパク質の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、軟骨損傷患者（60kgとして）においては、一日につき約0.1mg～100mg、好ましくは約1.0～5.0mg、より好ましくは約1.0～2.0mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、軟骨損傷患者（60kgとして）においては、一日につき約0.01～3.0mg程度、好ましくは約0.1～2.0mg程度、より好ましくは約0.1～1.0mg程度を診断注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60kg当たりに換算した量を投与することができる。本発明のDNAの投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、軟骨損傷患者（60kgとして）においては、一日につき約0.1mg～100mg、好ましくは約1.0～5.0mg、より好ましくは約1.0～2.0mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、軟骨損傷患者（60kgとして）においては、一日につき約0.01～3.0mg程度、好

ましくは約0.1～2.0mg程度、より好ましくは約0.1～1.0mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60kg当たりに換算した量を投与することができる。

【0044】(2) ①G111遺伝子の発現を制御する活性を有する化合物、②G111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御する作用を有する化合物または③骨・軟骨分化調節作用を有する化合物のスクリーニング方法

上記したごとく、G111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの塩、G111遺伝子DNAもしくはその相補DNAまたはその部分DNAおよびG111タンパク質またはその部分ペプチドを発現する能力を有する細胞は、G111遺伝子の発現を制御する活性を有する化合物やG111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御する作用を有する化合物等のスクリーニングに用いることができる。ひいては骨・軟骨分化調節作用を有する化合物のスクリーニングに用いることができる。G111遺伝子を発現する能力を有する細胞としては、温血動物（例えば、セト、モルモット、ラッカ、マウス、ニワトリ、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サル等）の細胞（例えば、グリア細胞、骨髄細胞、表皮細胞、纖維芽細胞、筋芽細胞、軟骨細胞、骨細胞もしくは骨芽細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞等）が用いられる。特に、骨または軟骨への分化能を有する細胞あるいは既に分化形態を示している細胞が好ましく、軟骨細胞、纖維芽細胞（例、マウス纖維芽細胞株C3H10T1/2）、筋芽細胞（例、マウス筋芽細胞株C2C12）などがより好ましい。

【0045】以下に、本発明のG111遺伝子の発現を制御（促進または阻害）する活性を有する化合物またはその塩のスクリーニング方法について詳述する。G111遺伝子発現はヘッジホッグと呼ばれる可溶性タンパク質によるシグナル伝達によって誘導され、骨形成を誘導し、骨・軟骨分化促進活性を有するため、G111遺伝子の発現を促進する活性を有する化合物またはその塩は、骨・軟骨分化調節（特に促進）作用を有し、骨・軟骨疾患、例えば整形外科領域の疾患（例、骨折、変形性関節症、骨關節炎、半月板損傷等の軟骨損傷、外傷、腰痛腰痛などによる骨・軟骨欠損部の再生、脊椎固定術、脊柱管拡大術などの骨再建、骨形成不全症、軟骨無形成症などの先天性骨・軟骨疾患）。脊椎領域の疾患（例、白疕病、下顎骨再建術、歯槽形成術などの骨再建）、骨粗鬆症などの予防・治療剤などの医薬として用いることができる。また、美容外科領域における骨移植の治療剤などの医薬としても用いることができるし、再生医療における自家修復の翻の分化誘導剤としても利用できる。一方、G111遺伝子の発現を阻害する活性を有する化合物またはその塩は、骨・軟骨分化調節（特に阻害）作用を有し、例えば骨・軟骨形成過剰症などの治療

・予防剤などの医薬として使用できる。したがって、G111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの塩、G111遺伝子DNAもしくはその相補DNAまたはその部分DNAまたはG111遺伝子を発現する能力を有する細胞は、G111遺伝子の発現を制御（促進または阻害）する活性を有する化合物またはその他のスクリーニング、ひいては骨・軟骨分化調節作用を有する化合物のスクリーニングのための材料として用いることができる。

- 【0046】すなわち、本発明は、①G111遺伝子を発現する能力を有する細胞を試験化合物の存在下に培養し、G111遺伝子DNAもしくはその相補DNAまたはその部分DNAを用いてG111タンパク質をコードするmRNA（以下、G111mRNAと略称する場合がある。）の量を測定することを特徴とするG111遺伝子の発現を制御する活性を有する化合物またはその塩のスクリーニング方法、より具体的には、②(1) G111遺伝子を発現する能力を有する細胞を培養した場合のG111mRNAの発現量と、(11) G111遺伝子を発現する能力を有する細胞を試験化合物の存在下に培養した場合のG111mRNAの量との比較を行うことを特徴とする。G111遺伝子の発現を制御する活性を有する化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。G111遺伝子を発現する能力を有する細胞としては、例えば、前記したG111遺伝子を発現する能力を有する公知の温血動物細胞などがあげられる。G111遺伝子を発現する能力を有する公知の温血動物細胞としては、例えば、骨または軟骨への分化能を有する細胞あるいは既に分化形態を示している細胞が好ましく、具体的には軟骨細胞、纖維芽細胞（例、マウス纖維芽細胞株C3H10T1/2）、筋芽細胞（例、マウス筋芽細胞株C2C12）などが用いられる。G111遺伝子を発現する能力を有する細胞の培養は、公知の動物細胞培養法と同様にして行われる。例えば、培地としては、約5～20%の胎児牛血清を含むMEM培地〔サイエンス(Science)、122巻、501(1962)〕、DMEM培地〔ヴィロロジー(Virology)、8巻、396(1959)〕、RPMI1640培地〔ジャーナル・オブ・ザ・アメリカン・メディカル・アソシエーション(The Journal of the American Medical Association)、199巻、519(1967)〕、199培地〔プロシージング・オブ・ザ・ソサイエティ・フォー・ザ・バイオロジカル・メディシン(Proceeding of the Society for the Biological Medicine)、73巻、1(1980)〕等が用いられる。pHは約6～8であるのが好ましい。培養は通常約30～40°Cで約15～60時間行い、必要に応じて通気や搅拌を加えてもよい。発現誘導剤を接触させることによってG111遺伝子が発現する動物細胞を用いる場合には、該動物細胞を発現誘導剤の存在下または非存在下で培養することができる。

【0047】mRNAの発現量の比較をハイブリダイゼーション法によって行うには、公知の方法あるいはそれに準じる方法、例えば、モレキュラー・クローニング(Molecular Cloning) 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989)に記載の方法等を使って行うことができる。具体的には、G111タンパク質をコードするmRNAの量の測定は、公知の方法に従って細胞から抽出したRNAとG111遺伝子をコードするDNA(G111遺伝子DNA)もしくはその相補DNAまたはその部分DNAとを接触させ、G111遺伝子DNAまたはその相補DNAに結合したmRNAの量を測定することによって行われる。G111遺伝子DNAの相補DNAまたはその部分DNAを、例えば放射性同位元素、色素などで標識することによって、G111遺伝子DNAの相補DNAに結合したG111 mRNAの量が容易に測定できる。放射性同位元素としては、例えば³²P、³³Hなどが用いられ、色素としては、例えばfluorescein、FAM(PE Biosystems社製)、JOE(PE Biosystems社製)、TAMRA(PE Biosystems社製)、ROX(PE Biosystems社製)、Cy5(Amersham社製)、Cy3(Amersham社製)などの蛍光色素が用いられる。また、G111 mRNAの量は、細胞から抽出したRNAを逆転写酵素によってcDNAに変換した後、G111遺伝子をコードするDNAもしくはその相補DNAまたはその部分DNAをプライマーとして用いるPCRによって、増幅されるcDNAの量を測定することによって行うことができる。G111 mRNAの量の測定に用いられるG111遺伝子DNAの相補DNAとしては、G111遺伝子DNA(上綴)に相補的な配列を有するDNA(下綴)があげられる。G111遺伝子DNAの部分DNAとしては、例えばG111遺伝子DNAの塩基配列中、連続した10~2200個程度、好ましくは10~300個程度、さらに好ましくは10~30個程度の塩基から構成される塩基配列があげられる。G111遺伝子DNAの相補DNAの部分DNAとしては、例えば前述したG111 DNAの部分DNAに相補的な配列を有するDNAがあげられる。即ち、例えばG111遺伝子DNAの塩基配列中、連続した10~2200個程度、好ましくは10~300個程度、さらに好ましくは10~30個程度の塩基から構成される塩基配列に相補的な配列を有するDNAがあげられる。PCRに用いられるプライマーとしては、例えば配列番号：1で表される塩基配列を含有するDNAおよび配列番号：2で表される塩基配列を含有するDNAなどがあげられる。G111 mRNAの量を増加させる試験化合物を、G111遺伝子の発現を促進する活性を有する化合物あるいは骨・軟骨分化調節(特に促進)作用を有する化合物として選択することができ、またG111 mRNAの量を減少させる試験化合物を、G111遺伝子の発現を阻害する活性を有する化合物あるいは骨

・軟骨分化調節(特に阻害)作用を有する化合物として選択することができる。

【0048】上記①~⑦に示したスクリーニング方法において試験化合物としては、例えば、ペプチド、タンパク質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

【0049】また、本発明は、⑧G111の公知プロモーター やエンハンサー領域をゲノムDNAよりクローリングし、適当なレポーター遺伝子の上流に連結させたDNAで形質転換した細胞(例えば、軟骨細胞、綿維芽細胞(例、マウス綿維芽細胞株C3H10T1/2)、筋芽細胞(例、マウス筋芽細胞株C2C12)など)を試験化合物の存在下で培養し、G111の発現に代えてレポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とする。G111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御する作用を有する化合物またはその他のスクリーニング方法、ひいてはG111遺伝子の発現を制御する活性を有する化合物またはその他のスクリーニング方法を用いて測定することによって、レポーター遺伝子産物の量を増加させる試験化合物をG111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御(特に促進)する作用を有する化合物、すなわちG111遺伝子の発現を促進する活性を有する化合物として選択でき、逆に、レポーター遺伝子産物の量を減少させる試験化合物をG111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御(特に阻害)する作用を有する化合物、すなわちG111遺伝子の発現を阻害する活性を有する化合物として選択することができる。試験化合物としては、前記と同様のものが使用される。細胞の培養は、公知の動物細胞培養と同様に行うことができる。

【0050】また、本発明は、⑨G111タンパク質またはその部分ペプチドを発現する能力を有する細胞を試験化合物の存在下および非存在下に培養し、軟骨分化のマーカー遺伝子の発現量を測定することを特徴とする骨・軟骨分化調節(促進または阻害)作用を有する化合物またはその他のスクリーニング方法を提供する。軟骨分化のマーカー遺伝子としてはII型Bコラーゲン遺伝子が好ましい。軟骨分化のマーカー遺伝子の発現量の測定は例えば配列番号：5、6、7または8で表される塩基配列を有するプライマーを用いたRT-PCR法を実施することにより測定することができる。軟骨分化のマーカー遺伝子の発現量を増加させる試験化合物を、骨・軟骨分化調節(特に促進)作用を有する化合物として選択することができ、また軟骨分化のマーカー遺伝子の発現

象を減少させる試験化合物を、骨・軟骨分化調節（特に阻害）作用を有する化合物として選択することができる。試験化合物としては、前記と同様のものが使用される。細胞の培養は、公知の動物細胞培養と同様に行うことができる。

【0051】また、本発明は、③G111タンパク質またはその部分ペプチドを発現する能力を有する細胞を試験化合物の存在下および非存在下に培養し、細胞の軟骨分化状態、例えば軟骨分化マーカーの発現を測定することを特徴とする骨・軟骨分化調節（促進または阻害）作用を有する化合物またはその他のスクリーニング方法を提供する。試験化合物としては、前記と同様のものが使用される。細胞の培養は、公知の動物細胞培養と同様に行うことができる。

【0052】さらに、G111タンパク質はG111遺伝子自身の転写あるいは、脛もしくは肺の分化に関与するHNF-3β遺伝子の転写を誘導していると報告されている。したがって、例えば上記した①または②のスクリーニング方法を実施することにより直線的にG111タンパク質の転写活性を測定できるか、またはHNF-3βを発現し得る細胞株を用いれば上記した①または③に記載の方法に準じてHNF-3βのmRNAの発現量を試験化合物の存在下および非存在下で測定し、比較することによりG111タンパク質の転写活性を測定することも可能である。

【0053】本発明のスクリーニング用キットには上記スクリーニング方法を実施するため、上記のG111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの組、またはG111遺伝子またはその産生物を產生する能力を有する細胞、またはG111遺伝子発現レポーターベクターを導入した細胞（G111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーをレポーター遺伝子に連結させたDNAで形成転換した細胞）、およびG111遺伝子DNAもしくはその相補DNAまたはその部分DNAを含有するものである。

【0054】本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物またはその他の、上記した試験化合物、例えば、ペプチド、タンパク質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などから選ばれた化合物であり、G111遺伝子の発現を制御（促進または阻害）する活性を有する化合物あるいはG111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御（促進または阻害）する作用を有する化合物、ひいては骨・軟骨分化調節作用を有する化合物である。該化合物の構造としては、生理学的に許容される酸（例、無機酸、有機酸）や糖（例、アルカリ金属塩）等との複合体が挙げられる。G111遺伝子の発現を促進する活性を有する化合物（またはG111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を促進する作用を有する化

合物、骨・軟骨分化誘導作用を有する化合物）またはその他の、骨・軟骨疾患、例えば整形外科領域の疾患（例、骨折、変形性関節症、骨腫瘍、半月板損傷等の軟骨損傷、外傷、腫瘍摘出などによる骨、軟骨欠損部の再生、脊椎固定術、脊柱管拡大術などの骨再建、骨形成不全症、軟骨無形成症などの先天性骨・軟骨疾患）。歯科領域の疾患（例、口蓋裂、下顎骨再建術、歯槽堤形成術などの骨再建）、骨粗鬆症などの予防・治療剤などの医薬として用いることができる。また、美容外科領域における骨移植の治療剤などの医薬としても用いることができるし、再生医療における自家移植の際の分化誘導剤としても利用できる。一方、G111遺伝子の発現を阻害する活性を有する化合物（またはG111遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を阻害する作用を有する化合物、骨・軟骨分化阻害作用を有する化合物）またはその他の、例えば骨・軟骨形成過剰症などの治療・予防剤などの医薬として使用できる。

【0055】本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物を上述の治療・予防剤として使用する場合、常套手段に従って実施することができ、例えば、錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤、無菌性溶液、懸濁液などとして、経口的または非経口的に投与することができる。このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、温血動物（例えは、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ウマ、トリ、ネコ、イヌ、サル、チンパンジーなど；好ましくは哺乳動物）に対して投与することができる。該化合物またはその他の投与量は、その作用、対象疾患、投与対象、投与ルートなどにより差異はあるが、例えは、軟骨損傷の治療目的でG111遺伝子の発現を促進する活性を有する化合物を経口投与する場合、一般的に成人（体重60kgとして）においては、一日につき該化合物を約0.1～1.0mg、好ましくは約1.0～6.0mg、より好ましくは約1.0～2.0mg投与する。非経口的に投与する場合は、該化合物の1回投与量は投与対象、対象疾患などによても異なるが、例えは、軟骨損傷の治療目的でG111遺伝子の発現を阻害する活性を有する化合物を注射剤の形で通常成人（60kgとして）に投与する場合、一日につき該化合物を約0.01～3.0mg程度、好ましくは約0.1～2.0mg程度、より好ましくは約0.1～1.0mg程度を静脈注射により投与するのが好適である。他の動物の場合も、60kg当たりに換算した量を投与することができる。一方、骨・軟骨形成過剰症の治療目的でG111遺伝子の発現を阻害する活性を有する化合物を経口投与する場合、一般的に成人（体重60kgとして）においては、一日につき該化合物を約0.1～1.0mg、好ましくは約1.0～6.0mg、より好ましくは約1.0～2.0mg投与する。非経口的に投与する場合は、該化合物の1回投与量は投与対

象、対象疾患などによっても異なるが、例えば、骨・軟骨形成過剰症の治療目的でG111遺伝子の発現を抑制する活性を有する化合物を注射剤の形で通常成人（60kgとして）に投与する場合、一日につき該化合物を約0.1～3.0mg程度、好ましくは約0.1～2.0mg程度、より好ましくは約0.1～1.0mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60kg当たりに換算した量を投与することができる。

【0056】(3) アンチセンススクレオチドを含有する医薬（骨・軟骨分化阻害剤）または診断剤（骨・軟骨疾患の診断剤）

本発明で用いられるDNAに相補的に結合し、前記DNAの発現を抑制することができる本発明で用いられるアンチセンススクレオチド（例、アンチセンスDNA）は、級悪性であり、生体内における本発明で用いられるタンパク質または本発明で用いられるDNAの機能抑制することができるので、例えば、骨・軟骨形成過剰症などの治療・予防剤などとして使用することができる。上記アンチセンススクレオチドを上記の予防・治療剤として使用する場合、公知の方法に従って製剤化し、投与することができる。例えば、前記アンチセンススクレオチドを用いる場合、前記アンチセンススクレオチドを単独あるいはレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルスアゾシエーテッドウイルスベクターなどの適当なベクターに挿入した後、常套手続に従って、哺乳動物（例えば、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ウマ、トリ、ネコ、イヌ、サル、チンパンジーなど、好ましくは哺乳動物）に対して経口的または非経口的に投与することができる。前記アンチセンススクレオチドは、そのままでも、あるいは摂取促進のために補助剤などの生理学的に認められる液体とともに製剤化し、遺伝子錠やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。前記アンチセンススクレオチドの投与量は、対象疾患、投与対象、投与ルートなどにより差異はあるが、例えば、骨・軟骨形成過剰症の治療の目的で本発明で用いられるアンチセンススクレオチドを経口投与する場合、成人（体重60kg）に対し、一日につき前記アンチセンススクレオチドを約0.1～1.0mg投与する。さらに、前記アンチセンススクレオチドは、組織や細胞における本発明で用いられるDNAの存在やその発現状況を調べるために診断用オリゴスクレオチドプローブとして使用することもできる。上記アンチセンススクレオチドと同様に、二本鎖RNA、リボザイム、デコイオリゴスクレオチドなども、前記DNAの発現を抑制することができ、生体内における本発明で用いられるタンパク質または本発明で用いられるDNAの機能抑制することができるので、例えば、骨・軟骨形成過剰症の予防・治療剤などとして使用することができる。二本鎖RNAは、公知の方法（例、

Nature, 411巻、404頁、2001年）に準じて、本発明で用いられるDNAの配列を基に設計して得られる。リボザイムは、公知の方法（例、TRENDS in Molecular Medicine, 7巻、221頁、2001年）に準じて、本発明で用いられるDNAの配列を基に設計して得られる。デコイオリゴスクレオチドは、公知の方法（例、The Journal of Clinical Investigation, 106巻、1671頁、2000年）に準じて、本発明で用いられるDNAの配列を基に設計して得られる。G111は転写因子であるのでG111の結合配列を含むデコイG111ペインティングオリゴスクレオチド（例えば5'-GACCACCA-3' (Kinzler KK, Vogelstein B., Mol Cell Biol 1990 Feb;10(2): 634-42)を含有するオリゴスクレオチドなど）などを有効に使用できる。上記の予防・治療剤として使用する場合、公知の方法に従って製剤化し、投与することができる。

【0057】(4) 遺伝子診断剤

本発明のDNAまたはアンチセンスDNAは、プローブとして使用することにより、哺乳動物（例えば、ヒト、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）における本発明のタンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAまたはmRNAの異常（遺伝子異常）を検出することができるので、例えば、該DNAまたはmRNAの損傷、突然変異あるいは発現低下や、該DNAまたはmRNAの増加あるいは発現過多などの遺伝子診断剤として有用である。本発明のDNAまたはアンチセンスDNAを用いる上記の遺伝子診断は、例えば、公知のノーザンハイブリダイゼーション法やPCR-SSCP法（ゲノミックス（Genomics）, 第5巻, 874～879頁（1989年）、ブロンジングス・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・アメリカ（Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA）, 第86巻, 2766～2770頁（1989年））などにより実施することができる。例えば、ノーザンハイブリダイゼーションにより本発明のタンパク質またはその部分ペプチドをコードするmRNAの発現低下が検出された場合は、例えば、骨・軟骨疾患、例えば整形外科領域の疾患（例、骨折、変形性関節症、骨関節炎、半月板損傷等の軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症などの先天性骨・軟骨疾患）、歯科領域の疾患（例、歯齦炎）、骨粗鬆症などの疾患である可能性が高いまたは将来罹患する可能性が高いと診断することができる。一方、ノーザンハイブリダイゼーションにより本発明のタンパク質またはその部分ペプチドをコードするmRNAの発現過多が検出された場合は、例えば、骨・軟骨形成過剰症などの疾患である可能性が高いまたは将来罹患する可能性が高いと診断することができる。

【0058】(5) G111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの塩の抗体を用いた診断剤
G111タンパク質、その部分ペプチドまたはそれらの

41

発の抗体（以下、本発明の抗体と略称する場合がある）は、本発明のタンパク質等を特異的に認識することができるので、被検液中の本発明のタンパク質等の定量、特にサンドイッチ免疫測定法による定量などに使用することができます。すなわち、本発明は、例えば、(i) 本発明の抗体と、被検液および標識化タンパク質等とを競合的に反応させ、該抗体に結合した標識化タンパク質等の結合を測定することを特徴とする被検液中の本発明のタンパク質等の定量法、(ii) 被検液と抗体上に不溶化した本発明の抗体および標識化された本発明の抗体とを同時にあるいは連続的に反応させたのち、不溶化抗体上の標識剤の活性を測定することを特徴とする被検液中の本発明のタンパク質等の定量法を提供する。上記(i)においては、一方の抗体が本発明のタンパク質等のN端部を認識する抗体で、他方の抗体が本発明のタンパク質等のC端部に反応する抗体であることが好ましい。

【0059】本発明のタンパク質等に対するモノクローナル抗体（以下、本発明のモノクローナル抗体と称する場合がある）を用いて本発明のタンパク質等の測定を行なえるほか、組織染色等による検出を行うこともできる。これらの目的には、抗体分子そのものを用いてもよく、また、抗体分子のF(ab')₂、F(ab')₁、あるいはF_aも部分を用いてもよい。本発明のタンパク質等に対する抗体を用いる測定法は、特に制限されるべきものではなく、被検液中の抗原量（例えば、タンパク質量）に対応した抗体、抗原もしくは抗体-抗原複合体の量を化学的または物理的手段により検出し、これを既知量の抗原を含む標準液を用いて作製した標準曲線より算出する測定法であれば、いずれの測定法を用いてもよい。例えば、ネフロメトリー、競合法、イムノメトリック法およびサンドイッチ法が好適に用いられるが、感度、特異性の点で、後に記載するサンドイッチ法を用いるのが特に好ましい。標識物質を用いる測定法に用いられる標識剤としては、例えば、放射性同位元素、酵素、螢光物質、発光物質などが用いられる。放射性同位元素としては、例えば、³H、¹⁴C、¹²⁵I、¹³¹I、¹²³I、¹¹¹In、^{99m}Tc、⁶⁷Ga、¹⁵³Gd、¹⁷⁷Lu、¹³⁸Sr、¹³⁹Y、¹⁴⁷Pm、¹⁵²Eu、¹⁵³Sm、¹⁵⁴Tb、¹⁵⁶Tb、¹⁵⁸Tb、¹⁶¹Tb、¹⁶⁴Tb、¹⁶⁶Tb、¹⁶⁷Tb、¹⁷⁰Tb、¹⁷¹Tb、¹⁷³Tb、¹⁷⁴Tb、¹⁷⁵Tb、¹⁷⁶Tb、¹⁷⁷Tb、¹⁷⁸Tb、¹⁷⁹Tb、¹⁸⁰Tb、¹⁸¹Tb、¹⁸²Tb、¹⁸³Tb、¹⁸⁴Tb、¹⁸⁵Tb、¹⁸⁶Tb、¹⁸⁷Tb、¹⁸⁸Tb、¹⁸⁹Tb、¹⁹⁰Tb、¹⁹¹Tb、¹⁹²Tb、¹⁹³Tb、¹⁹⁴Tb、¹⁹⁵Tb、¹⁹⁶Tb、¹⁹⁷Tb、¹⁹⁸Tb、¹⁹⁹Tb、²⁰⁰Tb、²⁰¹Tb、²⁰²Tb、²⁰³Tb、²⁰⁴Tb、²⁰⁵Tb、²⁰⁶Tb、²⁰⁷Tb、²⁰⁸Tb、²⁰⁹Tb、²¹⁰Tb、²¹¹Tb、²¹²Tb、²¹³Tb、²¹⁴Tb、²¹⁵Tb、²¹⁶Tb、²¹⁷Tb、²¹⁸Tb、²¹⁹Tb、²²⁰Tb、²²¹Tb、²²²Tb、²²³Tb、²²⁴Tb、²²⁵Tb、²²⁶Tb、²²⁷Tb、²²⁸Tb、²²⁹Tb、²³⁰Tb、²³¹Tb、²³²Tb、²³³Tb、²³⁴Tb、²³⁵Tb、²³⁶Tb、²³⁷Tb、²³⁸Tb、²³⁹Tb、²⁴⁰Tb、²⁴¹Tb、²⁴²Tb、²⁴³Tb、²⁴⁴Tb、²⁴⁵Tb、²⁴⁶Tb、²⁴⁷Tb、²⁴⁸Tb、²⁴⁹Tb、²⁵⁰Tb、²⁵¹Tb、²⁵²Tb、²⁵³Tb、²⁵⁴Tb、²⁵⁵Tb、²⁵⁶Tb、²⁵⁷Tb、²⁵⁸Tb、²⁵⁹Tb、²⁶⁰Tb、²⁶¹Tb、²⁶²Tb、²⁶³Tb、²⁶⁴Tb、²⁶⁵Tb、²⁶⁶Tb、²⁶⁷Tb、²⁶⁸Tb、²⁶⁹Tb、²⁷⁰Tb、²⁷¹Tb、²⁷²Tb、²⁷³Tb、²⁷⁴Tb、²⁷⁵Tb、²⁷⁶Tb、²⁷⁷Tb、²⁷⁸Tb、²⁷⁹Tb、²⁸⁰Tb、²⁸¹Tb、²⁸²Tb、²⁸³Tb、²⁸⁴Tb、²⁸⁵Tb、²⁸⁶Tb、²⁸⁷Tb、²⁸⁸Tb、²⁸⁹Tb、²⁹⁰Tb、²⁹¹Tb、²⁹²Tb、²⁹³Tb、²⁹⁴Tb、²⁹⁵Tb、²⁹⁶Tb、²⁹⁷Tb、²⁹⁸Tb、²⁹⁹Tb、³⁰⁰Tb、³⁰¹Tb、³⁰²Tb、³⁰³Tb、³⁰⁴Tb、³⁰⁵Tb、³⁰⁶Tb、³⁰⁷Tb、³⁰⁸Tb、³⁰⁹Tb、³¹⁰Tb、³¹¹Tb、³¹²Tb、³¹³Tb、³¹⁴Tb、³¹⁵Tb、³¹⁶Tb、³¹⁷Tb、³¹⁸Tb、³¹⁹Tb、³²⁰Tb、³²¹Tb、³²²Tb、³²³Tb、³²⁴Tb、³²⁵Tb、³²⁶Tb、³²⁷Tb、³²⁸Tb、³²⁹Tb、³³⁰Tb、³³¹Tb、³³²Tb、³³³Tb、³³⁴Tb、³³⁵Tb、³³⁶Tb、³³⁷Tb、³³⁸Tb、³³⁹Tb、³⁴⁰Tb、³⁴¹Tb、³⁴²Tb、³⁴³Tb、³⁴⁴Tb、³⁴⁵Tb、³⁴⁶Tb、³⁴⁷Tb、³⁴⁸Tb、³⁴⁹Tb、³⁵⁰Tb、³⁵¹Tb、³⁵²Tb、³⁵³Tb、³⁵⁴Tb、³⁵⁵Tb、³⁵⁶Tb、³⁵⁷Tb、³⁵⁸Tb、³⁵⁹Tb、³⁶⁰Tb、³⁶¹Tb、³⁶²Tb、³⁶³Tb、³⁶⁴Tb、³⁶⁵Tb、³⁶⁶Tb、³⁶⁷Tb、³⁶⁸Tb、³⁶⁹Tb、³⁷⁰Tb、³⁷¹Tb、³⁷²Tb、³⁷³Tb、³⁷⁴Tb、³⁷⁵Tb、³⁷⁶Tb、³⁷⁷Tb、³⁷⁸Tb、³⁷⁹Tb、³⁸⁰Tb、³⁸¹Tb、³⁸²Tb、³⁸³Tb、³⁸⁴Tb、³⁸⁵Tb、³⁸⁶Tb、³⁸⁷Tb、³⁸⁸Tb、³⁸⁹Tb、³⁹⁰Tb、³⁹¹Tb、³⁹²Tb、³⁹³Tb、³⁹⁴Tb、³⁹⁵Tb、³⁹⁶Tb、³⁹⁷Tb、³⁹⁸Tb、³⁹⁹Tb、⁴⁰⁰Tb、⁴⁰¹Tb、⁴⁰²Tb、⁴⁰³Tb、⁴⁰⁴Tb、⁴⁰⁵Tb、⁴⁰⁶Tb、⁴⁰⁷Tb、⁴⁰⁸Tb、⁴⁰⁹Tb、⁴¹⁰Tb、⁴¹¹Tb、⁴¹²Tb、⁴¹³Tb、⁴¹⁴Tb、⁴¹⁵Tb、⁴¹⁶Tb、⁴¹⁷Tb、⁴¹⁸Tb、⁴¹⁹Tb、⁴²⁰Tb、⁴²¹Tb、⁴²²Tb、⁴²³Tb、⁴²⁴Tb、⁴²⁵Tb、⁴²⁶Tb、⁴²⁷Tb、⁴²⁸Tb、⁴²⁹Tb、⁴³⁰Tb、⁴³¹Tb、⁴³²Tb、⁴³³Tb、⁴³⁴Tb、⁴³⁵Tb、⁴³⁶Tb、⁴³⁷Tb、⁴³⁸Tb、⁴³⁹Tb、⁴⁴⁰Tb、⁴⁴¹Tb、⁴⁴²Tb、⁴⁴³Tb、⁴⁴⁴Tb、⁴⁴⁵Tb、⁴⁴⁶Tb、⁴⁴⁷Tb、⁴⁴⁸Tb、⁴⁴⁹Tb、⁴⁵⁰Tb、⁴⁵¹Tb、⁴⁵²Tb、⁴⁵³Tb、⁴⁵⁴Tb、⁴⁵⁵Tb、⁴⁵⁶Tb、⁴⁵⁷Tb、⁴⁵⁸Tb、⁴⁵⁹Tb、⁴⁶⁰Tb、⁴⁶¹Tb、⁴⁶²Tb、⁴⁶³Tb、⁴⁶⁴Tb、⁴⁶⁵Tb、⁴⁶⁶Tb、⁴⁶⁷Tb、⁴⁶⁸Tb、⁴⁶⁹Tb、⁴⁷⁰Tb、⁴⁷¹Tb、⁴⁷²Tb、⁴⁷³Tb、⁴⁷⁴Tb、⁴⁷⁵Tb、⁴⁷⁶Tb、⁴⁷⁷Tb、⁴⁷⁸Tb、⁴⁷⁹Tb、⁴⁸⁰Tb、⁴⁸¹Tb、⁴⁸²Tb、⁴⁸³Tb、⁴⁸⁴Tb、⁴⁸⁵Tb、⁴⁸⁶Tb、⁴⁸⁷Tb、⁴⁸⁸Tb、⁴⁸⁹Tb、⁴⁹⁰Tb、⁴⁹¹Tb、⁴⁹²Tb、⁴⁹³Tb、⁴⁹⁴Tb、⁴⁹⁵Tb、⁴⁹⁶Tb、⁴⁹⁷Tb、⁴⁹⁸Tb、⁴⁹⁹Tb、⁵⁰⁰Tb、⁵⁰¹Tb、⁵⁰²Tb、⁵⁰³Tb、⁵⁰⁴Tb、⁵⁰⁵Tb、⁵⁰⁶Tb、⁵⁰⁷Tb、⁵⁰⁸Tb、⁵⁰⁹Tb、⁵¹⁰Tb、⁵¹¹Tb、⁵¹²Tb、⁵¹³Tb、⁵¹⁴Tb、⁵¹⁵Tb、⁵¹⁶Tb、⁵¹⁷Tb、⁵¹⁸Tb、⁵¹⁹Tb、⁵²⁰Tb、⁵²¹Tb、⁵²²Tb、⁵²³Tb、⁵²⁴Tb、⁵²⁵Tb、⁵²⁶Tb、⁵²⁷Tb、⁵²⁸Tb、⁵²⁹Tb、⁵³⁰Tb、⁵³¹Tb、⁵³²Tb、⁵³³Tb、⁵³⁴Tb、⁵³⁵Tb、⁵³⁶Tb、⁵³⁷Tb、⁵³⁸Tb、⁵³⁹Tb、⁵⁴⁰Tb、⁵⁴¹Tb、⁵⁴²Tb、⁵⁴³Tb、⁵⁴⁴Tb、⁵⁴⁵Tb、⁵⁴⁶Tb、⁵⁴⁷Tb、⁵⁴⁸Tb、⁵⁴⁹Tb、⁵⁵⁰Tb、⁵⁵¹Tb、⁵⁵²Tb、⁵⁵³Tb、⁵⁵⁴Tb、⁵⁵⁵Tb、⁵⁵⁶Tb、⁵⁵⁷Tb、⁵⁵⁸Tb、⁵⁵⁹Tb、⁵⁶⁰Tb、⁵⁶¹Tb、⁵⁶²Tb、⁵⁶³Tb、⁵⁶⁴Tb、⁵⁶⁵Tb、⁵⁶⁶Tb、⁵⁶⁷Tb、⁵⁶⁸Tb、⁵⁶⁹Tb、⁵⁷⁰Tb、⁵⁷¹Tb、⁵⁷²Tb、⁵⁷³Tb、⁵⁷⁴Tb、⁵⁷⁵Tb、⁵⁷⁶Tb、⁵⁷⁷Tb、⁵⁷⁸Tb、⁵⁷⁹Tb、⁵⁸⁰Tb、⁵⁸¹Tb、⁵⁸²Tb、⁵⁸³Tb、⁵⁸⁴Tb、⁵⁸⁵Tb、⁵⁸⁶Tb、⁵⁸⁷Tb、⁵⁸⁸Tb、⁵⁸⁹Tb、⁵⁹⁰Tb、⁵⁹¹Tb、⁵⁹²Tb、⁵⁹³Tb、⁵⁹⁴Tb、⁵⁹⁵Tb、⁵⁹⁶Tb、⁵⁹⁷Tb、⁵⁹⁸Tb、⁵⁹⁹Tb、⁶⁰⁰Tb、⁶⁰¹Tb、⁶⁰²Tb、⁶⁰³Tb、⁶⁰⁴Tb、⁶⁰⁵Tb、⁶⁰⁶Tb、⁶⁰⁷Tb、⁶⁰⁸Tb、⁶⁰⁹Tb、⁶¹⁰Tb、⁶¹¹Tb、⁶¹²Tb、⁶¹³Tb、⁶¹⁴Tb、⁶¹⁵Tb、⁶¹⁶Tb、⁶¹⁷Tb、⁶¹⁸Tb、⁶¹⁹Tb、⁶²⁰Tb、⁶²¹Tb、⁶²²Tb、⁶²³Tb、⁶²⁴Tb、⁶²⁵Tb、⁶²⁶Tb、⁶²⁷Tb、⁶²⁸Tb、⁶²⁹Tb、⁶³⁰Tb、⁶³¹Tb、⁶³²Tb、⁶³³Tb、⁶³⁴Tb、⁶³⁵Tb、⁶³⁶Tb、⁶³⁷Tb、⁶³⁸Tb、⁶³⁹Tb、⁶⁴⁰Tb、⁶⁴¹Tb、⁶⁴²Tb、⁶⁴³Tb、⁶⁴⁴Tb、⁶⁴⁵Tb、⁶⁴⁶Tb、⁶⁴⁷Tb、⁶⁴⁸Tb、⁶⁴⁹Tb、⁶⁵⁰Tb、⁶⁵¹Tb、⁶⁵²Tb、⁶⁵³Tb、⁶⁵⁴Tb、⁶⁵⁵Tb、⁶⁵⁶Tb、⁶⁵⁷Tb、⁶⁵⁸Tb、⁶⁵⁹Tb、⁶⁶⁰Tb、⁶⁶¹Tb、⁶⁶²Tb、⁶⁶³Tb、⁶⁶⁴Tb、⁶⁶⁵Tb、⁶⁶⁶Tb、⁶⁶⁷Tb、⁶⁶⁸Tb、⁶⁶⁹Tb、⁶⁷⁰Tb、⁶⁷¹Tb、⁶⁷²Tb、⁶⁷³Tb、⁶⁷⁴Tb、⁶⁷⁵Tb、⁶⁷⁶Tb、⁶⁷⁷Tb、⁶⁷⁸Tb、⁶⁷⁹Tb、⁶⁸⁰Tb、⁶⁸¹Tb、⁶⁸²Tb、⁶⁸³Tb、⁶⁸⁴Tb、⁶⁸⁵Tb、⁶⁸⁶Tb、⁶⁸⁷Tb、⁶⁸⁸Tb、⁶⁸⁹Tb、⁶⁹⁰Tb、⁶⁹¹Tb、⁶⁹²Tb、⁶⁹³Tb、⁶⁹⁴Tb、⁶⁹⁵Tb、⁶⁹⁶Tb、⁶⁹⁷Tb、⁶⁹⁸Tb、⁶⁹⁹Tb、⁷⁰⁰Tb、⁷⁰¹Tb、⁷⁰²Tb、⁷⁰³Tb、⁷⁰⁴Tb、⁷⁰⁵Tb、⁷⁰⁶Tb、⁷⁰⁷Tb、⁷⁰⁸Tb、⁷⁰⁹Tb、⁷¹⁰Tb、⁷¹¹Tb、⁷¹²Tb、⁷¹³Tb、⁷¹⁴Tb、⁷¹⁵Tb、⁷¹⁶Tb、⁷¹⁷Tb、⁷¹⁸Tb、⁷¹⁹Tb、⁷²⁰Tb、⁷²¹Tb、⁷²²Tb、⁷²³Tb、⁷²⁴Tb、⁷²⁵Tb、⁷²⁶Tb、⁷²⁷Tb、⁷²⁸Tb、⁷²⁹Tb、⁷³⁰Tb、⁷³¹Tb、⁷³²Tb、⁷³³Tb、⁷³⁴Tb、⁷³⁵Tb、⁷³⁶Tb、⁷³⁷Tb、⁷³⁸Tb、⁷³⁹Tb、⁷⁴⁰Tb、⁷⁴¹Tb、⁷⁴²Tb、⁷⁴³Tb、⁷⁴⁴Tb、⁷⁴⁵Tb、⁷⁴⁶Tb、⁷⁴⁷Tb、⁷⁴⁸Tb、⁷⁴⁹Tb、⁷⁵⁰Tb、⁷⁵¹Tb、⁷⁵²Tb、⁷⁵³Tb、⁷⁵⁴Tb、⁷⁵⁵Tb、⁷⁵⁶Tb、⁷⁵⁷Tb、⁷⁵⁸Tb、⁷⁵⁹Tb、⁷⁶⁰Tb、⁷⁶¹Tb、⁷⁶²Tb、⁷⁶³Tb、⁷⁶⁴Tb、⁷⁶⁵Tb、⁷⁶⁶Tb、⁷⁶⁷Tb、⁷⁶⁸Tb、⁷⁶⁹Tb、⁷⁷⁰Tb、⁷⁷¹Tb、⁷⁷²Tb、⁷⁷³Tb、⁷⁷⁴Tb、⁷⁷⁵Tb、⁷⁷⁶Tb、⁷⁷⁷Tb、⁷⁷⁸Tb、⁷⁷⁹Tb、⁷⁸⁰Tb、⁷⁸¹Tb、⁷⁸²Tb、⁷⁸³Tb、⁷⁸⁴Tb、⁷⁸⁵Tb、⁷⁸⁶Tb、⁷⁸⁷Tb、⁷⁸⁸Tb、⁷⁸⁹Tb、⁷⁹⁰Tb、⁷⁹¹Tb、⁷⁹²Tb、⁷⁹³Tb、⁷⁹⁴Tb、⁷⁹⁵Tb、⁷⁹⁶Tb、⁷⁹⁷Tb、⁷⁹⁸Tb、⁷⁹⁹Tb、⁸⁰⁰Tb、⁸⁰¹Tb、⁸⁰²Tb、⁸⁰³Tb、⁸⁰⁴Tb、⁸⁰⁵Tb、⁸⁰⁶Tb、⁸⁰⁷Tb、⁸⁰⁸Tb、⁸⁰⁹Tb、⁸¹⁰Tb、⁸¹¹Tb、⁸¹²Tb、⁸¹³Tb、⁸¹⁴Tb、⁸¹⁵Tb、⁸¹⁶Tb、⁸¹⁷Tb、⁸¹⁸Tb、⁸¹⁹Tb、⁸²⁰Tb、⁸²¹Tb、⁸²²Tb、⁸²³Tb、⁸²⁴Tb、⁸²⁵Tb、⁸²⁶Tb、⁸²⁷Tb、⁸²⁸Tb、⁸²⁹Tb、⁸³⁰Tb、⁸³¹Tb、⁸³²Tb、⁸³³Tb、⁸³⁴Tb、⁸³⁵Tb、⁸³⁶Tb、⁸³⁷Tb、⁸³⁸Tb、⁸³⁹Tb、⁸⁴⁰Tb、⁸⁴¹Tb、⁸⁴²Tb、⁸⁴³Tb、⁸⁴⁴Tb、⁸⁴⁵Tb、⁸⁴⁶Tb、⁸⁴⁷Tb、⁸⁴⁸Tb、⁸⁴⁹Tb、⁸⁵⁰Tb、⁸⁵¹Tb、⁸⁵²Tb、⁸⁵³Tb、⁸⁵⁴Tb、⁸⁵⁵Tb、⁸⁵⁶Tb、⁸⁵⁷Tb、⁸⁵⁸Tb、⁸⁵⁹Tb、⁸⁶⁰Tb、⁸⁶¹Tb、⁸⁶²Tb、⁸⁶³Tb、⁸⁶⁴Tb、⁸⁶⁵Tb、⁸⁶⁶Tb、⁸⁶⁷Tb、⁸⁶⁸Tb、⁸⁶⁹Tb、⁸⁷⁰Tb、⁸⁷¹Tb、⁸⁷²Tb、⁸⁷³Tb、⁸⁷⁴Tb、⁸⁷⁵Tb、⁸⁷⁶Tb、⁸⁷⁷Tb、⁸⁷⁸Tb、⁸⁷⁹Tb、⁸⁸⁰Tb、⁸⁸¹Tb、⁸⁸²Tb、⁸⁸³Tb、⁸⁸⁴Tb、⁸⁸⁵Tb、⁸⁸⁶Tb、⁸⁸⁷Tb、⁸⁸⁸Tb、⁸⁸⁹Tb、⁸⁹⁰Tb、⁸⁹¹Tb、⁸⁹²Tb、⁸⁹³Tb、⁸⁹⁴Tb、⁸⁹⁵Tb、⁸⁹⁶Tb、⁸⁹⁷Tb、⁸⁹⁸Tb、⁸⁹⁹Tb、⁹⁰⁰Tb、⁹⁰¹Tb、⁹⁰²Tb、⁹⁰³Tb、⁹⁰⁴Tb、⁹⁰⁵Tb、⁹⁰⁶Tb、⁹⁰⁷Tb、⁹⁰⁸Tb、⁹⁰⁹Tb、⁹¹⁰Tb、⁹¹¹Tb、⁹¹²Tb、⁹¹³Tb、⁹¹⁴Tb、⁹¹⁵Tb、⁹¹⁶Tb、⁹¹⁷Tb、⁹¹⁸Tb、⁹¹⁹Tb、⁹²⁰Tb、⁹²¹Tb、⁹²²Tb、⁹²³Tb、⁹²⁴Tb、⁹²⁵Tb、⁹²⁶Tb、⁹²⁷Tb、⁹²⁸Tb、⁹²⁹Tb、⁹³⁰Tb、⁹³¹Tb、⁹³²Tb、⁹³³Tb、⁹³⁴Tb、⁹³⁵Tb、⁹³⁶Tb、⁹³⁷Tb、⁹³⁸Tb、⁹³⁹Tb、⁹⁴⁰Tb、⁹⁴¹Tb、⁹⁴²Tb、⁹⁴³Tb、⁹⁴⁴Tb、⁹⁴⁵Tb、⁹⁴⁶Tb、⁹⁴⁷Tb、⁹⁴⁸Tb、⁹⁴⁹Tb、⁹⁵⁰Tb、⁹⁵¹Tb、⁹⁵²Tb、⁹⁵³Tb、⁹⁵⁴Tb、⁹⁵⁵Tb、⁹⁵⁶Tb、⁹⁵⁷Tb、⁹⁵⁸Tb、⁹⁵⁹Tb、⁹⁶⁰Tb、⁹⁶¹Tb、⁹⁶²Tb、⁹⁶³Tb、⁹⁶⁴Tb、⁹⁶⁵Tb、⁹⁶⁶Tb、⁹⁶⁷Tb、⁹⁶⁸Tb、⁹⁶⁹Tb、⁹⁷⁰Tb、⁹⁷¹Tb、⁹⁷²Tb、⁹⁷³Tb、⁹⁷⁴Tb、⁹⁷⁵Tb、⁹⁷⁶Tb、⁹⁷⁷Tb、⁹⁷⁸Tb、⁹⁷⁹Tb、⁹⁸⁰Tb、⁹⁸¹Tb、⁹⁸²Tb、⁹⁸³Tb、⁹⁸⁴Tb、⁹⁸⁵Tb、⁹⁸⁶Tb、⁹⁸⁷Tb、⁹⁸⁸Tb、⁹⁸⁹Tb、⁹⁹⁰Tb、⁹⁹¹Tb、⁹⁹²Tb、⁹⁹³Tb、⁹⁹⁴Tb、⁹⁹⁵Tb、⁹⁹⁶Tb、⁹⁹⁷Tb、⁹⁹⁸Tb、⁹⁹⁹Tb、¹⁰⁰⁰Tb、¹⁰⁰¹Tb、¹⁰⁰²Tb、¹⁰⁰³Tb、¹⁰⁰⁴Tb、¹⁰⁰⁵Tb、¹⁰⁰⁶Tb、¹⁰⁰⁷Tb、¹⁰⁰⁸Tb、¹⁰⁰⁹Tb、¹⁰¹⁰Tb、¹⁰¹¹Tb、¹⁰¹²Tb、¹⁰¹³Tb、¹⁰¹⁴Tb、¹⁰¹⁵Tb、¹⁰¹⁶Tb、¹⁰¹⁷Tb、¹⁰¹⁸Tb、¹⁰¹⁹Tb、¹⁰²⁰Tb、¹⁰²¹Tb、¹⁰²²Tb、¹⁰²³Tb、¹⁰²⁴Tb、¹⁰²⁵Tb、¹⁰²⁶Tb、¹⁰²⁷Tb、¹⁰²⁸Tb、¹⁰²⁹Tb、¹⁰³⁰Tb、¹⁰³¹Tb、¹⁰³²Tb、¹⁰³³Tb、¹⁰³⁴Tb、¹⁰³⁵Tb、¹⁰³⁶Tb、¹⁰³⁷Tb、¹⁰³⁸Tb、¹⁰³⁹Tb、¹⁰⁴⁰Tb、¹⁰⁴¹Tb、¹⁰⁴²Tb、¹⁰⁴³Tb、¹⁰⁴⁴Tb、¹⁰⁴⁵Tb、¹⁰⁴⁶Tb、¹⁰⁴⁷Tb、¹⁰⁴⁸Tb、¹⁰⁴⁹Tb、¹⁰⁵⁰Tb、¹⁰⁵¹Tb、¹⁰⁵²Tb、¹⁰⁵³Tb、¹⁰⁵⁴Tb、¹⁰⁵⁵Tb、¹⁰⁵⁶Tb、¹⁰⁵⁷Tb、¹⁰⁵⁸Tb、¹⁰⁵⁹Tb、¹⁰⁶⁰Tb、¹⁰⁶¹Tb、¹⁰⁶²Tb、¹⁰⁶³Tb、¹⁰⁶⁴Tb、¹⁰⁶⁵Tb、¹⁰⁶⁶Tb、¹⁰⁶⁷Tb、¹⁰⁶⁸Tb、¹⁰⁶⁹Tb、¹⁰⁷⁰Tb、¹⁰⁷¹Tb、¹⁰⁷²Tb、¹⁰⁷³Tb、¹⁰⁷⁴Tb、¹⁰⁷⁵Tb、¹⁰⁷⁶Tb、¹⁰⁷⁷Tb、¹⁰⁷⁸Tb、¹⁰⁷⁹Tb、¹⁰⁸⁰Tb、¹⁰⁸¹Tb、¹⁰⁸²Tb、¹⁰⁸³Tb、¹⁰⁸⁴Tb、¹⁰⁸⁵Tb、¹⁰⁸⁶Tb、¹⁰⁸⁷Tb、¹⁰⁸⁸Tb、¹⁰⁸⁹Tb、¹⁰⁹⁰Tb、¹⁰⁹¹Tb、¹⁰⁹²Tb、¹⁰⁹³Tb、¹⁰⁹⁴Tb、¹⁰⁹⁵Tb、¹⁰⁹⁶Tb、¹⁰⁹⁷Tb、¹⁰⁹⁸T

条件、操作法に当業者の通常の技術的配慮を加えて本発明のタンパク質等の測定系を構築すればよい。これらの一般的な技術手段の詳細については、総説、成書などを参照することができる（例えば、入江 寛編「ラジオイムノアッセイ」（講談社、昭和49年発行）、入江 寛編「統ラジオイムノアッセイ」（講談社、昭和54年発行）、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」（医学書院、昭和53年発行）、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」（第2版）（医学書院、昭和57年発行）、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」（第3版）（医学書院、昭和62年発行）、「メソップ・イン・エンザイモノジー (Methods in ENZYMOLOGY)」 Vol. 70 (Immunochemical Techniques (Part A))、同書 Vol. 73 (Immunochemical Techniques (Part B))、同書 Vol. 74 (Immunochemical Techniques (Part C))、同書 Vol. 84 (Immunochemical Techniques (Part D: Selected Immunoassays))、同書 Vol. 92 (Immunochemical Techniques (Part E: Monoclonal Antibodies and General Immunoassay Methods))、同書 Vol. 121 (Immunochemical Techniques (Part F: Hybridoma Technology and Monoclonal Antibodies))（以上、アカデミックプレス社発行）など参照）。以上のように、本発明の抗体を用いることによって、本発明のタンパク質等を感度良く定量することができる。さらに、本発明の抗体を用いて、生体内での本発明のタンパク質等を定量することによって、上記したような各種骨・軟骨疾患の診断をすることができる。例えば、上記の定量法を用いることにより本発明のタンパク質またはその部分ペプチドの濃度減少が検出された場合は、例えば、骨・軟骨疾患、例えば整形外科領域の疾患（例、骨折、変形性関節症、骨膜剥離症、半月板損傷等の軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症などの先天性骨・軟骨疾患）、歯科領域の疾患（例、口蓋裂）、骨粗鬆症などの疾患である可能性が高いまたは将来罹患する可能性が高いと診断することができる。一方、上記の定量法を用いることにより本発明のタンパク質またはその部分ペプチドの濃度上昇が検出された場合は、例えば、骨・軟骨形成過剰症などの疾患である可能性が高いまたは将来罹患する可能性が高いと診断することができる。また、本発明の抗体は、体液や組織などの被検体中に存在する本発明のタンパク質等を特異的に検出するために使用することができる。また、本発明のタンパク質等を精製するために使用する抗体カラムの作製、精製時の各分画中の本発明のタンパク質等の検出、被検細胞内における本発明のタンパク質の挙動の分析などのために使用することができる。

【0063】(6) DNA転移動物

本発明は、外來性の本発明のタンパク質等をコードするDNA（以下、本発明の外來性DNAと略記する）またはその変異DNA（本発明の外來性変異DNAと略記する場合がある）を有する非ヒト哺乳動物を提供する。すなわち、本発明は、（1）本発明の外來性DNAまたは

その変異DNAを有する非ヒト哺乳動物、（2）非ヒト哺乳動物がゲッケ動物である第（1）記載の動物、（3）ゲッケ動物がマウスまたはラットである第（2）記載の動物、および（4）本発明の外來性DNAまたはその変異DNAを含有し、哺乳動物において発現しうる組換えベクターを提供するものである。本発明の外來性DNAまたはその変異DNAを有する非ヒト哺乳動物（以下、本発明のDNA転移動物と略記する）は、未受精卵、受精卵、精子およびその始原細胞を含む胚芽細胞などに対して、好ましくは、非ヒト哺乳動物の発生における胚発生の段階（さらに好ましくは、単細胞または受精卵細胞の段階でかつ一般に8細胞期以前）に、リン酸カルシウム法、電気パルス法、リボフェクション法、凝集法、マイクロインジェクション法、バーティカルガン法、DEAE-デキストラン法などにより目的とするDNAを転移することによって作出することができる。また、該DNA転移方法により、体細胞、生体の臓器、組織細胞などに目的とする本発明の外來性DNAを転移し、細胞培養、組織培養などに利用することもでき、さらに、これら細胞を上述の胚芽細胞と公類の細胞融合法により融合させることにより本発明のDNA転移動物を作出することもできる。

【0064】非ヒト哺乳動物としては、例えば、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、イヌ、ネコ、モルモット、ハムスター、マウス、ラットなどが用いられる。なかでも、病床動物モデル系の作成の面から細体発生および生物サイクルが比較的短く、また、繁殖が容易なゲッケ動物、とりわけマウス（例えば、純系として、C57BL/6系統、DBA/2系統など、交雑系として、B6C3F1系統、BDF1系統、B6D2F1系統、BALB/c系統、ICR系統など）またはラット（例えば、Wistar, SDなど）などが好ましい。哺乳動物において発現しうる組換えベクターにおける「哺乳動物」としては、上記の非ヒト哺乳動物の他ヒトなどが挙げられる。本発明の外來性DNAとは、非ヒト哺乳動物が本来有している本発明のDNAではなく、いったん哺乳動物から離離・抽出された本発明のDNAをいう。本発明の変異DNAとしては、元の本発明のDNAの塩基配列に変異（例えば、突然変異など）が生じたもの、具体的には、塩基の付加、欠損、他の塩基への置換などが生じたDNAなどが用いられ、また、異常DNAも含まれる。該異常DNAとしては、異常な本発明のタンパク質を発現させるDNAを意味し、例えば、正常な本発明のタンパク質の機能を抑制するタンパク質を発現させるDNAなどが用いられる。本発明の外來性DNAは、対象とする動物と同種あるいは異種のどちらの哺乳動物由来のものであってもよい。本発明のDNAを対象動物に転移させるにあたっては、該DNAを動物細胞で発現させうるプロモーターの下流に結合したDNAConストラクトとして用いるのが一般に有利である。例えば、本

発明のヒトDNAを転移させる場合、これと相容性が高い本発明のDNAを有する各種哺乳動物（例えは、ウサギ、イス、ネコ、モルモット、ハムスター、ラット、マウスなど）由来のDNAを発現させうる各種プロモーターの下流に、本発明のヒトDNAを結合したDNAコンストラクト（例、ベクターなど）を対象哺乳動物の受精卵、例えは、マウス受精卵へマイクロインジェクションすることによって本発明のDNAを高発現するDNA転移哺乳動物を作出することができる。

【0065】本発明のタンパク質の発現ベクターとしては、大腸菌由来のプラスミド、枯草菌由来のプラスミド、酵母由来のプラスミド、エフアージなどのバクテリオファージ、モロニー白血病ウイルスなどのレトロウイルス、ワクシニアウイルスまたはパキッロウイルスなどの動物ウイルスなどが用いられる。なかでも、大腸菌由来のプラスミド、枯草菌由来のプラスミドまたは酵母由来のプラスミドなどが好ましく用いられる。上記のDNA発現調節を行なうプロモーターとしては、例えは、①ウイルス（例、シミアンウイルス、サイトメガロウイルス、モロニー白血病ウイルス、JCウイルス、乳癌ウイルス、ボリオウイルスなど）由来するDNAのプロモーター、②各種哺乳動物（ヒト、ウサギ、イス、ネコ、モルモット、ハムスター、ラット、マウスなど）由来のプロモーター、例えは、アルブミン、インスリンI I、ウロプロテキンI I、エラスター、エリスロポエチン、エンドセリン、筋クレアチニナーゼ、グリア酸性糖性タンパク質、グルクチオオンS-トランスフェラーゼ、血小板由来成長因子、ケラチンK1、K10およびK4、コラーゲンI型およびII型、サイクリックAMP依存タンパク質キナーゼB1サブユニット、ジストロフィン、酒石酸抵抗性アルカリフォスファターゼ、心房ナトリウム利尿性因子、内皮レセプター-サロシンキナーゼ（一般にT1-a2と略される）、ナトリウムカリウムアデノシン3'リン酸化酵素（Na⁺-ATPase）、エヌロフィラメント網、メタクロチオネインIおよびI IA、メタクロプロティナーゼ1組織インヒビター、MHCクラスI抗原（H-2L）、H-ras、レニン、ドーベルミンB-水酸化酵素、甲状腺ペルオキシダーゼ（TPO）、ポリペプチド鎖延長因子1α（EFT-1α）、βアクチン、αおよびβミオシン重鎖、ミオシン軽鎖1および2、ミエリシン基礎タンパク質、チログロブリン、Thy-1、免疫グロブリン、巨頭可変部（V-NP）、血清アミロイドPコンポーネント、ミオグロビン、トロポニンC、平滑筋αアクチン、プレプロエンケファリンA、パソブレンシ等のプロモーターなどが用いられる。なかでも、全身で高発現することが可能なサイトメガロウイルスプロモーター、ヒトボリペプチド鎖延長因子1α（EFT-1α）のプロモーター、ヒトおよびニコトリβアクチングロモーターなどが好適である。

【0066】上記ベクターは、DNA転移哺乳動物にお

いて目的とするmRNAの転写を終結する配列（一般にターミネーターと呼ばれる）を有していることが好ましく、例えは、ウィルス由来および各種哺乳動物由来の各DNAの配列を用いることができ、好ましくは、シミアンウイルスのSV40ターミネーターなどが用いられる。その他、目的とする外來性DNAをさらに高発現させる目的で各DNAのスプライシングナル、エンハンサー領域、真核DNAのイントロンの一端などをプロモーター領域の5'上流、プロモーター領域と翻訳領域間あるいは翻訳領域の3'下流に連結することも目的により可能である。正常な本発明のタンパク質の翻訳領域は、各種哺乳動物（例えは、ヒト、ウサギ、イス、ネコ、モルモット、ハムスター、ラット、マウスなど）由来の肝臓、腎臓、甲状腺細胞、纖維芽細胞由来DNAおよび市販の各種ゲノムDNAライブラリーよりグノムDNAの全てあるいは一部として、または肝臓、腎臓、甲状腺細胞、纖維芽細胞由来RNAより公知の方法により調製された粗細DNAを原料として取得することが出来る。また、外來性の異常DNAは、上記の細胞または組織より得られた正常なタンパク質の翻訳領域を点突然変異誘発法により変異した翻訳領域を作製することができる。該翻訳領域は転移動物において発現しうるDNAコンストラクトとして、前記のプロモーターの下流および所望により転写終結部位の上流に連結させる通常の遺伝子工学的手法により作製することができる。受精卵細胞段階における本発明の外來性DNAの転移は、対象哺乳動物の胚芽細胞および体細胞のすべてに存在するように確保される。DNA転移後の作出動物の胚芽細胞において、本発明の外來性DNAが存在することは、作出動物の後代がすべて、その胚芽細胞および体細胞のすべてに本発明の外來性DNAを保持することを意味する。本発明の外來性DNAを受け継いだこの種の動物の子孫はその胚芽細胞および体細胞のすべてに本発明の外來性DNAを有する。

【0067】本発明の外來性正常DNAを転移させた非ヒト哺乳動物は、交配により外來性DNAを安定に保持することを確認して、該DNA保有動物として通常の飼育環境で継代飼育することが出来る。受精卵細胞段階における本発明の外來性DNAの転移は、対象哺乳動物の胚芽細胞および体細胞の全てに過剰に存在するよう確保される。DNA転移後の作出動物の胚芽細胞において本発明の外來性DNAが過剰に存在することは、作出動物の子孫が全てその胚芽細胞および体細胞の全てに本発明の外來性DNAを過剰に有することを意味する。本発明の外來性DNAを受け継いだこの種の動物の子孫はその胚芽細胞および体細胞の全てに本発明の外來性DNAを過剰に有する。導入DNAを相同染色体の両方に跨つホモザイゴート動物を取得し、この雌雄の動物を交配することによりすべての子孫が該DNAを過剰に有するように整然継代することができる。本発明の正常DNAを

47

有する非ヒト哺乳動物は、本発明の正常DNAが高発現させられており、内在性の正常DNAの機能を促進することにより最終的に本発明のタンパク質の機能亢進症（例、軽等、骨・軟骨分化説導などの亢進症）を発症することがあり、その病態モデル動物として利用することができる。例えば、本発明の正常DNA転移動物を用いて、本発明のタンパク質の機能亢進症や、本発明のタンパク質が関連する疾患の病態機序の解明およびこれらの疾患の治療方法の検討を行なうことが可能である。また、本発明の外來性正常DNAを転移させた哺乳動物は、遊離した本発明のタンパク質の増加症状を有することから、本発明のタンパク質に関連する疾患に対する治療薬のスクリーニング試験にも利用可能である。

【0068】一方、本発明の外來性異常DNAを有する非ヒト哺乳動物は、交配により外來性DNAを安定に保持することを確認して該DNA保有動物として通常の飼育環境で継代飼育することが出来る。さらに、目的とする外来DNAを前述のプラスミドに組み込んで原料として用いることができる。プロモーターとのDNAコンストラクトは、通常の遺伝子工学的手法によって作製することができる。受精卵細胞段階における本発明の異常DNAの転移は、対象哺乳動物の胚芽細胞および体細胞の全てに存在するように確保される。DNA転移後の作出動物の胚芽細胞において本発明の異常DNAが存在することは、作出動物の子孫が全てその胚芽細胞および体細胞の全てに本発明の異常DNAを有することを意味する。本発明の外來性DNAを受け継いだこの種の動物の子孫は、その胚芽細胞および体細胞の全てに本発明の異常DNAを有する。導入DNAを相同染色体の両方に持つホモザイゴート動物を獲得し、この雌雄の動物を交配することによりすべての子孫が該DNAを有するように繁殖継代することができる。本発明の異常DNAを有する非ヒト哺乳動物は、本発明の異常DNAが高発現させられており、内在性の正常DNAの機能を障害することにより最終的に本発明のタンパク質の機能不活性型不応症となることがあり、その病態モデル動物として利用することができる。例えば、本発明の異常DNA転移動物を用いて、本発明のタンパク質の機能不活性型不応症の病態機序の解明およびこの疾患を治療方法の検討を行なうことが可能である。また、具体的な利用可能性としては、本発明の異常DNA発現動物は、本発明のタンパク質の機能不活性型不応症における本発明の異常タンパク質による正常タンパク質の機能阻害（dominant negative作用）を解明するモデルとなる。また、本発明の外來異常DNAを転移させた哺乳動物は、遊離した本発明のタンパク質の増加症状を有することから、本発明のタンパク質の機能不活性型不応症に対する治療薬スクリーニング試験にも利用可能である。

【0069】また、上記2種類の本発明のDNA転移動物のその他の利用可能性として、例えば、①組織培養の

48

ための細胞源としての使用、②本発明のDNA転移動物の組織中のDNAもしくはRNAを直接分析するか、またはDNAにより発現されたタンパク質組織を分析することによる、本発明のタンパク質により特異的に発現あるいは活性化するタンパク質との関連性についての解析、③DNAを有する組織の細胞を標準組織培養技術により培養し、これらを使用して、一般に培養困難な組織からの細胞の機能の研究、④上記③記載の細胞を用いることによる細胞の機能を高めるような薬剤のスクリーニング、および⑤本発明の変異タンパク質を単離精製およびその抗体作製などが考えられる。さらに、本発明のDNA転移動物を用いて、本発明のタンパク質の機能不活性型不応症などを含む、本発明のタンパク質に関連する疾患の臨床症状を調べることができ、また、本発明のタンパク質に関連する疾患モデルの各臓器におけるより詳細な病理学的所見が得られ、新しい治療方法の開発、さらには、該疾患による二次的疾患の研究および治療に貢献することができる。また、本発明のDNA転移動物から各臓器を取り出し、細切後、トリプシンなどのタンパク質分解酵素により、遊離したDNA転移細胞の取得、その培養またはその培養細胞の系統化を行なうことが可能である。さらに、本発明のタンパク質産生細胞の特定化、アボトーシス、分化あるいは増殖との関連性、またはそれらにおけるシグナル伝達機構を調べ、それらの異常を調べることなどができる、本発明のタンパク質およびその作用解明のための有力な研究材料となる。さらに、本発明のDNA転移動物を用いて、本発明のタンパク質の機能不活性型不応症を含む、本発明のタンパク質に関連する疾患の治療薬の開発を行なうために、上述の検査法および定量法などを用いて、有効で迅速な該疾患治療薬のスクリーニング法を提供することが可能となる。また、本発明のDNA転移動物または本発明の外來性DNA発現ベクターを用いて、本発明のタンパク質が関連する疾患のDNA治療法を検討、開発することが可能である。

【0070】(7) ノックアウト動物

本発明は、本発明のDNAが不活性化された非ヒト哺乳動物胚幹細胞および本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物を提供する。すなわち、本発明は、(1) 本発明のDNAが不活性化された非ヒト哺乳動物胚幹細胞、(2) 該DNAがレポーター遺伝子（例、大腸菌由来のβ-ガラクトンダーゼ遺伝子）を導入することにより不活性化された第(1)項記載の胚幹細胞、(3) カオマインシン耐性である第(1)項記載の胚幹細胞、(4) 非ヒト哺乳動物がグッサ動物である第(1)項記載の胚幹細胞、(5) グッサ動物がマウスである第(4)項記載の胚幹細胞、(6) 本発明のDNAが不活性化された該DNA発現不全非ヒト哺乳動物、(7) 該DNAがレポーター遺伝子（例、大腸菌由来のβ-ガラクトンダーゼ遺伝子）を導入することにより不活性化され、該レポー

ター遺伝子が本発明のDNAに対するプロモーターの制御下で発現しうる第(6)項記載の非ヒト哺乳動物、

(8) 非ヒト哺乳動物がゲッ歯動物である第(6)項記載の非ヒト哺乳動物、(9) ゲッ歯動物がマウスである第(8)項記載の非ヒト哺乳動物、および(10) 第(7)項記載の動物に、試験化合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とする本発明のDNAに対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

【0071】本発明のDNAが不活性化された非ヒト哺乳動物胚幹細胞とは、該非ヒト哺乳動物が有する本発明のDNAに入為的に変異を加えることにより、DNAの発現能を抑制するか、もしくは該DNAがコードしている本発明のタンパク質の活性を実質的に喪失させることにより、DNAが実質的に本発明のタンパク質の発現能を有さない(以下、本発明のノックアウトDNAと称することがある)非ヒト哺乳動物の胚幹細胞(以下、ES細胞と略記する)をいう。非ヒト哺乳動物としては、筋記と同様のものが用いられる。本発明のDNAに入為的に変異を加える方法としては、例えば、遺伝子工学的手法により該DNA配列の一部又は全部の削除、他のDNAを挿入または置換することによって行なうことができる。これらの変異により、例えば、コドンの読み取り枠をずらしたり、プロモーターあるいはエキソンの機能を破壊することにより本発明のノックアウトDNAを作製すればよい。本発明のDNAが不活性化された非ヒト哺乳動物胚幹細胞(以下、本発明のDNA不活性化ES細胞または本発明のノックアウトES細胞と略記する)の具体例としては、例えば、目的とする非ヒト哺乳動物が有する本発明のDNAを挿入し、そのエキソン部分にネオマイシン耐性遺伝子、ハイグロマイシン耐性遺伝子を代表とする薬剤耐性遺伝子、あるいはl-a-c-Z(タガラクトシダーゼ遺伝子)、c-a-t(クロラムフェニコールアセチルトランスフェーゼ遺伝子)を代表とするレポーター遺伝子等を挿入することによりエキソンの機能を破壊するか、あるいはエキソン間のインtron部分に遺伝子の転写を終結させるDNA配列(例えば、ボリA付加シグナルなど)を挿入し、完全なmRNAを作成できなくなることによって、結果的に遺伝子を破壊するよう構築したDNA配列を有するDNA鎖(以下、ターゲッティングベクターと略記する)を、例えば相間組換え法により該動物の染色体に導入し、得られたES細胞について本発明のDNA上あるいはその近傍のDNA配列をプローブとしたサザンハイブリダイゼーション解析あるいはターゲッティングベクター上のDNA配列とターゲッティングベクター作製に使用した本発明のDNA以外の近傍領域のDNA配列をプライマーとしたPCR法により解釈し、本発明のノックアウトES細胞を選別することにより得ることができる。

【0072】また、相間組換え法等により本発明のDN-

Aを不活性化する元のES細胞としては、例えば、前述のような既に樹立されたものを用いてもよく、また公知EvansとKaufmanの方法に準じて新しく樹立したものでもよい。例えば、マウスのES細胞の場合、現在、一般的には129系のES細胞が使用されているが、免疫学的背景がはつきりしていないので、これに代わる純系で免疫学的に遺伝的背景が明らかなES細胞を取得するなどの目的で例えば、C57BL/6マウスやC57BL/6の授卵数の少なさをDBA/2との交純により改善したBDF1マウス(C57BL/6とDBA/2とのF1)を用いて樹立したものなども良好に用いられる。BDF1マウスは、授卵数が多く、かつ、雌が丈夫であるという利点に加えて、C57BL/6マウスを背景に持つので、これを用いて得られたES細胞は網膜モデルマウスを作出したとき、C57BL/6マウスとバッククロスすることでその遺伝的背景をC57BL/6マウスに代えることが可能である点で有利に用い得る。また、ES細胞を樹立する場合、一般には受精後3.5日目の胚盤胞を使用するが、これ以外に8細胞期胚を採卵し胚盤胞まで培養して用いることにより効率よく多数の初期胚を得ることができる。また、雌雄いずれのES細胞を用いてもよいが、通常雄のES細胞の方が生殖系列よりも作出するのに都合が良い。また、煩雑な培養の手順を削減するためにもできるだけ早く雌雄の判別を行なうことが望ましい。ES細胞の雌雄の判定方法としては、例えば、PCR法によりY染色体上の性決定領域の遺伝子を增幅、検出する方法が、その1例として挙げることができる。この方法を使用すれば、従来、縦型分析をするのに約10⁴個の細胞数を要していたのに対して、1コロニー程度のES細胞数(約50個)で済むので、培養初期におけるES細胞の第一次セレクションを雌雄の判別で行なうことが可能であり、早期に雌細胞の選定を可能にしたことにより培養初期の手間は大幅に削減できる。

【0073】また、第二次セレクションとしては、例えば、G-バーンディング法による染色体数の確認等により行なうことができる。得られたES細胞の染色体数は正常数の100%が望ましいが、樹立の際の物理的操作等の関係上困難な場合は、ES細胞の遺伝子をノックアウトした後、正常細胞(例えば、マウスでは染色体数が2n=40である細胞)に再びクローニングすることが望ましい。このようにして得られた胚幹細胞株は、通常その増殖性は大変良いが、細胞発生できる能力を失いやすいので、注意深く継代培養することが必要である。例えば、STO細胞等の細胞のようない適当なフィーダー細胞上でLIF(1-1000U/ml)存在下に炭酸ガス培養器内(好ましくは、5%炭酸ガス、95%空気または5%酸素、5%炭酸ガス、90%空気)で約37°Cで培養するなどの方法で培養し、継代時には、例えば、トリプシン/EDTA溶液(通常0.001-0.5%トリプ

シン／0、1～5 mM EDTA、好ましくは約0、1%トリプシン／1 mM EDTA)処理により単細胞化し、新たに用意したフィーダー細胞上に播種する方法などがとられる。このような細代は、通常1～3日毎に行なうが、この間に細胞の観察を行い、形態的に異常な細胞が見受けられた場合はその培養細胞は放棄することが望まれる。ES細胞は、適切な条件により、高密度に至るまで単層培養するか、または細胞集塊を形成するまで浮遊培養することにより、頭頸筋、内臓筋、心筋などの様々なタイプの細胞に分化させることが可能であり(見、J. Evans及びR. H. Kauffman、ネイチャー(Nature)第292巻、154頁、1981年; G. R. Martin、ブロード・イングス・オブ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンス・ニューエヌエー(Proc. Natl. Acad. Sci. USA)第78巻、7634頁、1981年; T. C. Doetschmanら、ジャーナル・オブ・エクスプロリオジー・アンド・エクスペリメンタル・モルフオロジー、第97巻、27頁、1985年)、本発明のES細胞を分化させて得られる本発明のDNA発現不全細胞は、インビトロにおける本発明のタンパク質の細胞生物学的検討において有用である。本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物は、該動物のmRNA量を公知方法を用いて測定して間接的にその発現量を比較することにより、正常動物と区別することが可能である。該非ヒト哺乳動物としては、前記と同様のものが用いられる。

【0074】本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物は、例えば、前述のようにして作製したターゲッティングベクターをマウス胚幹細胞またはマウス卵細胞に導入し、導入によりターゲッティングベクターの本発明のDNAが不活性化されたDNA配列が遺伝子相同組換えにより、マウス胚幹細胞またはマウス卵細胞の染色体上の本発明のDNAに入れ換わる相同組換えをさせることにより、本発明のDNAをノックアウトさせることができる。本発明のDNAがノックアウトされた細胞は、本発明のDNA上またはその近傍のDNA配列をプローブとしたサザンハイブリダイゼーション解析またはターゲッティングベクター上のDNA配列と、ターゲッティングベクターに使用したマウス由来の本発明のDNA以外の近傍領域のDNA配列とをプライマーとしたPCR法による解析で判定することができる。非ヒト哺乳動物胚幹細胞を用いた場合は、遺伝子相同組換えにより、本発明のDNAが不活性化された細胞株をクローニングし、その細胞を適当な時期、例えば、8細胞期の非ヒト哺乳動物胚または胚細胞に注入し、作製したキメラ胚を偽妊娠させた偽非ヒト哺乳動物の子宮に移植する。作成された動物は正常な本発明のDNA座をもつ細胞と人为的に変異した本発明のDNA座をもつ細胞との両者から構成されるキメラ動物である。該キメラ動物の生殖細胞の一部が変異した本発明のDNA座をもつ場合、このようなキメラ細胞と正常細胞を交配することにより得られた細胞より、全ての組織が人為的に変異を加えた本発明のD

NA座をもつ細胞で構成された個体を、例えば、マークカラーの判定等により選別することにより得られる。このようにして得られた個体は、通常、本発明のタンパク質のヘテロ発現不全個体であり、本発明のタンパク質のヘテロ発現不全個体同志を交配し、それらの産仔から本発明のタンパク質のホモ発現不全個体を得ることができる。卵細胞を使用する場合は、例えば、卵細胞内にマイクロインジェクション法でDNA溶液を注入することによりターゲッティングベクターを染色体内に導入したトランスジェニック非ヒト哺乳動物を得ることができ、これらのトランスジェニック非ヒト哺乳動物に比べて、遺伝子相同組換えにより本発明のDNA座に変異のあるものを選択することにより得られる。

【0075】このようにして本発明のDNAがノックアウトされている個体は、交配により得られた動物個体も該DNAがノックアウトされていることを確認して通常の飼育環境で飼育継代を行なうことができる。さらに、生殖系列の取得および保持についても常法に従えばよい。すなわち、該不活性DNAの保存する雌雄の動物を交配することにより、該不活性DNAを相同染色体の両方に持つホモザイゴート動物を取得しうる。得られたホモザイゴート動物は、母親動物に対して、正常個体1、ホモザイゴート複数になるような状態で飼育することにより効率的に得ることができる。ヘテロザイゴート動物の雌雄を交配することにより、該不活性DNAを有するホモザイゴートおよびヘテロザイゴート動物を繁殖継代する。本発明のDNAが不活性化された非ヒト哺乳動物胚幹細胞は、本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物を作出する上で、非常に有用である。また、本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物は、本発明のタンパク質により誘導され得る様々な生物活性を欠失するため、本発明のタンパク質の生物活性の不活性化を原因とする疾患のモデルとなり得るので、これらの疾患の原因究明及び治療法の検討に有用である。

【0076】(7a) 本発明のDNAの欠損や損傷などに起因する疾患に対して治療・予防効果を有する化合物のスクリーニング方法

本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物は、本発明のDNAの欠損や損傷などに起因する疾患、例えば、骨・軟骨疾患、例えば整形外科領域の疾患(例、骨折、変形性関節症、骨関節炎、半月板損傷等の軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症などの先天性骨・軟骨疾患)、歯科領域の疾患(例、口蓋裂)、骨粗鬆症などの疾患に対して治療・予防効果を有する化合物のスクリーニングに用いることができる。すなわち、本発明は、本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物に試験化合物を投与し、該動物の変化を観察・測定することを特徴とする。本発明のDNAの欠損や損傷などに起因する疾患に対して治療・予防効果を有する化合物またはその他のスクリーニング方法を提供する。該スクリーニング方法に

において用いられる本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物としては、前記と同様のものが挙げられる。試験化合物としては、例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。具体的には、本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物を、試験化合物で処理し、無処理の対照動物と比較し、該動物の各器官、組織、疾患の症状などの変化を指標として試験化合物の治療・予防効果を試験することができる。試験動物を試験化合物で処理する方法としては、例えば、経口投与、静脈注射などが用いられ、試験動物の症状、試験化合物の性質などにあわせて適宜選択することができる。また、試験化合物の投与量は、投与方法、試験化合物の性質などにあわせて適宜選択することができる。例えば、GL11遺伝子発現不全に起因して起こるような軟骨損傷治療不全に対して治療・予防効果を有する化合物をスクリーニングする場合、本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物に骨・軟骨損傷処置（例えば、「骨折など」を行ない）、骨・軟骨損傷処置前または処置後に試験化合物を投与し、該動物の軟骨分化マーカーの発現量、体重変化などを経時的に測定する。該スクリーニング方法において、試験動物に試験化合物を投与した場合、該試験動物の軟骨分化マーカーが約10%以上、好ましくは約30%以上、より好ましくは約60%以上上昇した場合、該試験化合物を軟骨損傷に対して治療・予防効果を有する化合物として選択することができる。

【0077】本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物は、上記した試験化合物から選ばれた化合物であり、本発明のタンパク質等の欠損や損傷などによって引き起こされる疾患、例えば、骨・軟骨疾患、例えば整形外科領域の疾患（例、骨折、変形性関節症、骨腫瘍、半月板損傷等の軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症などの先天性骨・軟骨疾患）、歯科領域の疾患（例、口蓋裂）、骨組疊症などの疾患に対して治療・予防効果を有するので、該疾患に対する安全で低毒性な治療・予防薬などの医薬として使用することができる。さらに、上記スクリーニングで得られた化合物から誘導される化合物も同様に用いることができる。該スクリーニング方法で得られた化合物は癌を形成していくともよく、該化合物の癌としては、生理学的に許容される酸（例、無機酸、有機酸）や塩基（例アルカリ金属）などとの酸が用いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加癌が好ましい。この様な癌としては、例えば、無機酸（例、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸）との塩、あるいは有機酸（例、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、マル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、タエン酸、リンゴ酸、酢酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸）との塩などが用いられる。該スクリーニ

ング方法で得られた化合物またはその塩を含有する医薬は、前記した本発明のタンパク質の活性を調節する化合物を含有する医薬と同様にして製造することができる。このようにして得られる製剤は、安全で低毒性であるので、例えば、哺乳動物（例えば、セト、ラット、マウス、モルモット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ウマ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。該化合物またはその塩の投与量は、対象疾患、投与対象、投与ルートなどにより差異はあるが、例えば、軟骨損傷の治療目的で該化合物を経口投与する場合、一般的に成人（体重60kgとして）においては、一日につき該化合物を約0.1～1.0mg、好ましくは約1.0～5.0mg、より好ましくは約1.0～2.0mg投与する。非経口的に投与する場合は、該化合物の1回投与量は投与対象、対象疾患などによっても異なるが、例えば、軟骨損傷の治療目的で該化合物を注射剤の形で通常成人（60kgとして）に投与する場合、一日につき該化合物を約0.01～3.0mg程度、好ましくは約0.1～2.0mg程度、より好ましくは約0.1～1.0mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60kg当たりに換算した量を投与することができる。

【0078】（7b）本発明のDNAに対するプロモーターの活性を促進する化合物をスクリーニング方法
本発明は、本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物に、試験化合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とする本発明のDNAに対するプロモーターの活性を促進する化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。上記スクリーニング方法において、本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物としては、前記した本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物の中でも、本発明のDNAがレポーター遺伝子を導入することにより不活性化され、該レポーター遺伝子が本発明のDNAに対するプロモーターの制御下で発現しうるもののが用いられる。試験化合物としては、前記と同様のものが挙げられる。レポーター遺伝子としては、前記と同様のものが用いられ、リガラクトンダーゼ遺伝子（lacZ）、可溶性アルカリファクターゼ遺伝子またはルシフェラーゼ遺伝子などが好適である。本発明のDNAをレポーター遺伝子で置換された本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物では、レポーター遺伝子が本発明のDNAに対するプロモーターの支配下に存在するので、レポーター遺伝子がコードする物質の発現をトレースすることにより、プロモーターの活性を検出することができる。

【0079】例えば、本発明のタンパク質をコードするDNA領域の一部を大腸菌由来のリガラクトンダーゼ遺伝子（lacZ）で置換している場合、本来、本発明のタンパク質の発現する組織で、本発明のタンパク質の代わりにβ-ガラクトンダーゼが発現する。従って、例

又は、3-ブロモ-4-クロロー-3-インドリル-3-ガラクトビラノシド(X-gal)のような3-ガラクトシダーゼの基質となる試薬を用いて染色することにより、簡便に本発明のタンパク質の動物生体内における発現状態を観察することができる。具体的には、本発明のタンパク質欠損マウスまたはその組織切片をグルタルアルデヒドなどで固定し、リン酸緩衝生理食塩液(PBS)で洗浄後、X-galを含む染色液で、室温または37°C附近で、約30分ないし1時間反応させた後、組織標本を1 mM EDTA/PBS浴液で洗浄することによって、β-ガラクトシダーゼ反応を停止させ、顕色を観察すればよい。また、常法に従い、1α-ZをコードするmRNAを検出してもよい。

【0080】上記スクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩は、上記した試験化合物から選ばれた化合物であり、本発明のDNAに対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物である。該スクリーニング方法で得られた化合物は癌を形成していくともよく、該化合物の塩としては、生理学的に許容される酸(例、無機酸)や堿基(例、有機酸)などとの塩が用いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。この様な塩としては、例えば、無機酸(例えは、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸)との塩、あるいは有機酸(例えは、酢酸、草酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蘇酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸)との塩などが用いられる。本発明のDNAに対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩は、本発明のタンパク質の発現を促進し、該タンパク質の機能を促進することができるので、例えば、骨・軟骨疾患(例えは整形外科領域の疾患(例、骨折、変形性膝関節症、骨関節炎、半月板損傷等の軟骨損傷、外傷、骨形成不全症、軟骨無形成症などの先天性骨・軟骨疾患)、歯科領域の疾患(例、口蓋裂)、骨粗鬆症などの疾患など)に対する安全で低毒性な治療・予防剤などの医薬として有用である。

【0081】該スクリーニング方法で得られた化合物またはその塩を含有する医薬は、前記した本発明のタンパク質またはその塩を含有する医薬と同様にして製造することができる。このようにして得られる製剤は、安全で低毒性であるので、例えは、哺乳動物(例えは、ヒト、ラット、マウス、モルモット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ウマ、ネコ、イス、サルなど)に対して投与することができる。該化合物またはその塩の投与量は、対象疾患、投与対象、投与ルートなどにより差異はあるが、例えは、軟骨損傷の治療目的で本発明のDNAに対するプロモーター活性を促進する化合物を経口投与する場合、一般的に成人(体重60kgとして)においては、一日につき該化合物を約0.1~1.0mg、好ましくは約1.0~5.0mg、より好ましくは約1.0~2.0

mg投与する。非経口的に投与する場合は、該化合物の一回投与量は投与対象、対象疾患などによっても異なるが、例えは、軟骨損傷の治療目的で本発明のDNAに対するプロモーター活性を促進する化合物を注射剤の形で通常成人(60kgとして)に投与する場合、一日につき該化合物を約0.01~3.0mg程度、好ましくは約0.1~2.0mg程度、より好ましくは約0.1~1.0mg程度を静脈注射により投与するのが好適である。他の動物の場合も、60kg当たりに換算した量を投与することができる。このように、本発明のDNA発現不全非ヒト哺乳動物は、本発明のDNAに対するプロモーターの活性を促進する化合物またはその塩をスクリーニングする上で極めて有用であり、本発明のDNA発現不全に起因する各種疾患の原因究明または予防・治療薬の開発に大きく貢献することができる。また、本発明のタンパク質のプロモーター領域を含有するDNAを使って、その下流に種々のタンパクをコードする遺伝子を連結し、これを動物の卵細胞に注入していわゆるトランスジェニック動物(遺伝子移入動物)を作成すれば、特異的にそのタンパクを合成させ、その生体での作用を検討することも可能となる。さらに上記プロモーター部分に適当なレポーター遺伝子を結合させ、これが発現するような細胞株を樹立すれば、本発明のタンパク質そのものの体内での産生能力を特異的に促進もしくは抑制する作用を持つ低分子化合物の探索系として使用できる。また該プロモーター部分を解析することにより新たなシグナルメントやそれに結合する転写因子を見つけることも可能である。

【0082】本明細書および図面において、塩基をアミノ酸等を略号で表示する場合、IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclatureによる略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。またアミノ酸に關し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければ左体を示すものとする。

DNA	: デオキシリボ核酸
cDNA	: 相補的デオキシリボ核酸
A	: アデニン
T	: チミン
G	: グアニン
C	: シトシン
RNA	: リボ核酸
mRNA	: メッセンジャーリボ核酸
Gly	: グリシン
Ala	: アラニン
Val	: バリン
Leu	: ロイシン
Ile	: イソロイシン
Ser	: セリン
Thr	: スレオニン

	57
Cys	:システィン
Met	:メチオニン
Glu	:グルタミン酸
Asp	:アスパラギン酸
Lys	:リジン
Arg	:アルギニン
His	:ヒスチジン
Phe	:フェニルアラニン
Trp	:トリプトファン
Pro	:プロリン
Asn	:アスパラギン
Gln	:グルタミン
pGln	:ピログルタミン酸

【0083】本願明細書の配列表の配列番号は、以下の範例を示す。

【配列番号：1】G111 mRNAの量を測定する際に使用できるPCR用プライマーを示す。（実施例4および5）

【配列番号：2】G111 mRNAの量を測定する際に使用できるPCR用プライマーを示す。（実施例4および5）

【配列番号：3】マウスG111 cDNAの取得のために使用したプライマーを示す。

【配列番号：4】マウスG111 cDNAの取得のために使用したプライマーを示す。

【配列番号：5】実施例1、2および4のRT-PCRで使用したプライマーを示す。

【配列番号：6】実施例1、2および4のRT-PCRで使用したプライマーを示す。

【配列番号：7】実施例3のRT-PCRで使用したプライマーを示す。

【配列番号：8】実施例3のRT-PCRで使用したプライマーを示す。

【配列番号：9】マウスG111遺伝子（cDNA）の塩基配列を示す。

【配列番号：10】マウスG111タンパク質のアミノ酸配列を示す。

【配列番号：11】ヒトG111タンパク質のアミノ酸配列を示す。

【配列番号：12】ヒトG111遺伝子（cDNA）の塩基配列を示す。

【配列番号：13】ヒトG111変異タンパク質1のアミノ酸配列を示す。

【配列番号：14】ヒトG111変異遺伝子1（cDNA）の塩基配列を示す。

【配列番号：15】ヒトG111変異タンパク質2のアミノ酸配列を示す。

【配列番号：16】ヒトG111変異遺伝子2（cDNA）の塩基配列を示す。

68
【配列番号：17】ヒトG111変異タンパク質3のアミノ酸配列を示す。

【配列番号：18】ヒトG111変異遺伝子3（cDNA）の塩基配列を示す。

【配列番号：19】マウスG111タンパク質のアミノ酸配列を示す。

【配列番号：20】マウスG111遺伝子（cDNA）の塩基配列を示す。

【配列番号：21】ヒトG113タンパク質のアミノ酸配列を示す。

【配列番号：22】ヒトG113遺伝子（cDNA）の塩基配列を示す。

【0084】

【実施例】以下に、実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、本発明はそれらに限定されるものではない。なお、大腸菌を用いての遺伝子操作は、モレキュラー・クローニング（Molecular Cloning）に記載されている方法に従い、各種キット類の使用法は添付されているマニュアルに従った。

【0085】まず実施例に用いたG111およびScieraxis发现ベクターの作製方法、細胞培養条件、遺伝子導入法を以下に示す。

【G111发现ベクターの調製】マウス19日胎児ライプラリーより配列番号：33および4に示すプライマーを使用し、PfuTurbo(Stratagene)DNA polymerase を用いてPCR法にてマウスG111 cDNAを得た。得られた断片はpCRb1unt (Invitrogen) ベクターにクローニング後、塩基配列を決定した。その結果、得られた遺伝子は公知のマウス遺伝子であるAF026305とはアミノ酸レベルで24個、またAB026922とは同じく2個の異なる配列を有していた〔DNA配列：配列番号：9（マウスG111遺伝子の塩基配列は具体的には配列番号：9の第213番目のAから第3545番目のCまでの塩基配列）。タンパク質のアミノ酸配列：配列番号：10および図1〕。次にこのベクターをNotI, HindIIIで消化し、p cDNA 3.1 (Invitrogen) IC G111断片をサブクローニングすることによって動物細胞発現ベクターを調製した。

【Scieraxis发现ベクターの調製】Scieraxisは骨・軟骨分化に関与することが報告されている(Liu, Y. et al. J. Biol. Chem. (1997) 272, 29880-29885)。その機能の詳細は不明なところが多い転写因子である。マウスライプラリーよりPCR法にてマウスScieraxis cDNAを得た。得られた断片はpCRb1unt (Invitrogen) ベクターにクローニング後、BamHI-XbaIで消化し、p cDNA 3.1 (Invitrogen) にScieraxis断片をサブクローニングすることによって動物細胞発現ベクターを調製した。

【細胞培養法】マウス纏維芽細胞株C3H16T1/2

株、およびマウス筋芽細胞種C2C12はATCCより購入し、10% FBSを含むDMEM (GIBCO)にて培養した。ヒト正常軟骨細胞は東洋紡より購入してト正常軟骨細胞培養キットに含まれるChondrocytes growth mediumを用い、細胞培養ディッシュ (Falcon) で培養した。なお、この細胞はディッシュで培養しているため脱分化しており、軟骨細胞マーカーであるI型Bコラーゲン遺伝子は発現しなくなっている。

【遺伝子導入法】ウェルあたり約15万個の細胞を24ウェルプレートに播き、翌日上記発現ベクターとFugene 6 (ペーリング) を混和し、各種細胞に添加することによってトランスクレクションした。

【化合物添加法】ウェルあたり約20万個の細胞を24ウェルプレートに播き、2時間後、ジメチルスルフォキシド (DMSO) に溶解した9-(2-Tetrahydrofuryl)adenine (THFA) を添加した。最終DMSO濃度は0.1% (v/v) 以下とした。

【発現量比較】トランスクレクション、あるいは化合物添加後2日目にRNasey mini kit (Qiagen) を用いてRNAを抽出し、message clean kit (gemhunter) でDNase処理した後、RNA PCR kit (Takara) に従いRT-PCRを行った。反応後、アガロースゲルにて電気泳動し、Gel image (Geneomic solutions) を用いて目的のバンドの比較を行った。

【0086】実施例1 G111発現ベクター導入によるマウスC3H10T1/2細胞の軟骨分化に及ぼす影響

G111発現ベクターまたはp cDNA3.1をC3H10T1/2細胞後にトランスクレクション後、2日目に配列番号：6および6に示すプライマーを用いてRT-PCRを行ったところ軟骨分化のマーカーであるI型Bコラーゲン遺伝子 (Col2a1) の発現が、ベクター p cDNA3.1 (Invitrogen) を導入した場合を1とするとG111を導入すると、0を示した。また、この時間時にSonic hedgehog, Indian hedgehogおよびScleraxisの発現を見たが、全く発現を認めなかつた。

【0087】実施例2 G111発現ベクター導入によるマウスC2C12細胞の軟骨分化に及ぼす影響

G111発現ベクターまたはp cDNA3.1をC2C12細胞後にトランスクレクション後2日目に配列番号：5および6に示すプライマーを用いてRT-PCRを行ったところ、この細胞はベクター p cDNA3.1を導入した場合Col2a1を全く発現していないに對し、G111遺伝子を導入することによってCol2a1の発現を認めた。

【0088】実施例3 G111発現ベクター導入による脱分化型ヒト正常軟骨細胞の再分化に及ぼす影響

G111発現ベクターまたはp cDNA3.1を脱分化型ヒト正常軟骨細胞にトランスクレクション後2日目に

配列番号：7および8に示すプライマーを用いてRT-PCRを行ったところ、この細胞はベクター p cDNA3.1を導入した場合COL2A1を全く発現していないに對し、G111遺伝子を導入することによってCOL2A1の発現を認めた。

【0089】実施例4 マウスC3H10T1/2細胞の軟骨分化に及ぼすScleraxis遺伝子の発現による軟骨分化に及ぼす効果

マウスC3H10T1/2細胞の軟骨分化に及ぼすG111以外の転写因子の発現による軟骨分化に及ぼす効果を見るために、Scleraxis遺伝子をトランスクレクションした。トランスクレクション2日目に配列番号：5および6に示すプライマーを用いてRT-PCRを行ったところ軟骨分化のマーカーであるI型Bコラーゲン遺伝子 (Col2a1) の発現が、ベクター p cDNA3.1を導入した場合の約2倍向上していた。この時間にScleraxis遺伝子発現によるG111遺伝子の発現を配列番号：1および3に示すプライマーを用いて見たところp cDNA3.1を導入した場合の約2.5倍向上していることがわかった。このことはScleraxisの軟骨分化に対する効果はG111の発現上昇に起因することを示唆しているが、Sonic hedgehogおよびIndian hedgehogはこの条件ではいずれも発現しておらず、Scleraxisはヘッジホッグを介さずにG111を誘導しうることがわかった。即ちヘッジホックタンパク質を用いなくともG111を介した軟骨分化を誘導しうることが明らかとなつた。

【0090】実施例5 G111発現を誘導する低分子化合物の探索

C3H10T1/2細胞を用いてG111発現を誘導する低分子化合物を探索した。その結果、9-(2-Tetrahydrofuryl)adenine (THFA) を500μMで添加すると2日後にはG111遺伝子の発現はDMSO添加時に比べ約2.3倍向上していることが配列番号：1および2に示すプライマーを使用したRT-PCRにてわかつた。この時Col2a1の発現も約2.3倍向上していた。この場合もScleraxisやSonic hedgehog, Indian hedgehogの発現は認められず、THFAの軟骨分化誘導効果はヘッジホックタンパクを介さずにG111を誘導することに起因していることがわかつた。以上の結果より、G111の発現の増減を指標として選択される化合物は骨・軟骨疾患予防、治療薬として有望であることが判明した。また上記の実験はマウスの遺伝子を用いて実施されたが、ヒトの遺伝子とマウスの遺伝子には非常に高い相間性があることは既知であり、ヒトの遺伝子を用いてこれららの結果と同様の結果が得られるることは容易に予測できる。

【0091】

【発明の効果】 G111遺伝子またはその産物は骨あるいは軟骨分化誘導活性をするため、整形外科領域の疾患

61

(例、骨折、変形性関節症、骨関節炎、半月板損傷等の軟骨損傷、外傷、腫瘻摘出などによる骨、軟骨欠損部の再生、脊椎固定術、脊柱管拡大術などの骨再建、骨形成不全症、軟骨無形成症などの先天性骨・軟骨疾患)または、歯科領域の疾患(例、口蓋裂、下顎骨再建術、歯槽嵴形成術などの骨再建)、さらには骨粗鬆症などの予防・治療剤として用いることができる。また、美容外科領域における骨移植の治療剤としても用いることができるし、再生医療における自家移植の際の分化誘導剤としても利用できる。また、G 1-1-1タンパク質等を用いたスクリーニング方法、G 1-1-1遺伝子を発現する能力を有する細胞を用いたスクリーニング方法またはレポーター遺伝子発現形質転換体を用いたスクリーニング方法は、G 1-1-1遺伝子の発現を制御(促進または阻害)する活性を有する化合物、G 1-1-1遺伝子のプロモーターもしくはエンハンサーの活性を制御(促進または阻害)する作用を有する化合物、骨・軟骨分化調節(促進または阻害)作用を有する化合物、またはそれらの處の探索に用いることができる。このような化合物を用いてG 1-1-1遺伝子またはその産物の作用(例、無効活性)を増強¹⁰ま²⁰

62

*たは活性化することによって骨・軟骨分化を誘導することができる。上記スクリーニングにより得られるG 1-1-1遺伝子の発現を促進する活性を有する化合物などは骨、あるいは軟骨誘導活性を有するため、整形外科領域の疾患(例、骨折、変形性関節症、骨関節炎、半月板損傷等の軟骨損傷、外傷、腫瘻摘出などによる骨、軟骨欠損部の再生、脊椎固定術、脊柱管拡大術などの骨再建、骨形成不全症、軟骨無形成症などの先天性骨・軟骨疾患)または、歯科領域の疾患(例、口蓋裂、下顎骨再建術、歯槽嵴形成術などの骨再建)、さらには骨粗鬆症などの予防・治療剤として用いることができる。また、美容外科領域における骨移植の治療剤としても用いることができるし、再生医療における自家移植の際の分化誘導剤としても利用できる。一方、上記スクリーニングにより得られるG 1-1-1遺伝子の発現を阻害する活性を有する化合物やG 1-1-1遺伝子のアンチセンスRNAなどは、例えば骨・軟骨形成過剰症の予防・治療剤として用いることができる。

【0092】

【範例表】

SEQUENCE LISTING

<110> Takeda Chemical Industries, Ltd.

<120> Use of G1II gene

<130> P2001-179

<140>

<141>

<150> JP 2000-242767

<151> 2000-8-4

<160> 22

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Designed oligonucleotide primer to amplify DNA encoding G1II

<400> 1

AGACTGGCGC TGGGATGGT GC

22

<210> 2

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Designed oligonucleotide primer to amplify DNA encoding G1II

<400> 2

TCCCTCTGAT GGCGCTTGCT CA

22

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

63

64

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Designed oligonucleotide primer to amplify DNA encoding CIII

<400> 3

TTGAGCTTGG GATGAAGAAG CAGT

24

<210> 4

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Designed oligonucleotide primer to amplify DNA encoding CIII

<400> 4

ATAACACCC CCAGGCCAA CCT

23

<210> 5

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Designed oligonucleotide primer to amplify DNA encoding mouse Col2 al.

<400> 5

GTCATCGCC GCCTGTCTAC G

21

<210> 6

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Designed oligonucleotide primer to amplify DNA encoding mouse Col2 al.

<400> 6

CTGCCAGGT TGCCTGGAT TG

23

<210> 7

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Designed oligonucleotide primer to amplify DNA encoding human Col2 al.

<400> 7

CCCGGGCACT CCTGGCAUTG AT

22

<210> 8

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Designed oligonucleotide primer to amplify DNA encoding human Col2 al.

<400> 8

CTTGACACC TCCGACCTCT TTAG

24

<210> 9

65

66

<211> 3635

<212> DNA

<213> Mouse

<400> 9

TTGAGGTGG CATTAGAAC CAGTGGGAC GGCAGCTGG AGTCTCGGT CGTAGAGGA 60
 ATCCAGAGA CTGTCATCC CCAAGACTG ACGGCTCTT CGGCCACTC TTGGATGT 120
 TCTCTTAA CGAACGCTGA AAGTTTATT GATTTCATG ACCAGTTCT GAGATGAGG 180
 TTAGAGETCC CCTCATCTT CCTGAGACG CCATGTCAA TCCAATGACT CGGCCACAG 240
 TCAATAGCTA TGTTGAGCA TGCTGCTCC GACCCCTCGA CAGCCAGGA GCCCCAGCA 300
 TGGAAACAGA AGGACTTTCT GTGCTGGGCT TTGCGACCA AGCGAATTG ATGTCAGGGT 360
 CGCCGCTTA TGAGCGACG AGAGAGACCA CGAGCTCAC TGAGGATCT CTCTTCCTC 420
 CTCTCTCTC TCCTGGAGT TCACTTAAAT TAACAAAGAS CGGGCTCTC TCGATCTCC 480
 CCTTCTCTG TCCAGGCTC GACCTGCAA CGTAAATCG GACCTCACCC AGCTCGTGG 540
 TGGTTTCTAT CAACTCTCG TGACATCTC CGGCGGGTC CTACGGCCAT CTCTCCATTG 600
 GTACCATAG CCTCTCTTA GGATCOACAC CTCAAGATGAG TCACTAAAAA CGAATTCAC 660
 CTGGCTATG AGTCAGCCC TGTTTCCAC ATGACTCTAC TCGGCTTCA ATGATGTTTC 720
 ACCCCCAGG CGGGGACCA CGTCAAGCT CGACGCTGAA CTGAGGCTG CATATGATGG 780
 TGGCAACTG CGGGGAGGAC CCTTGGAAAG GGGACATCTC TAGGCGCANC TCCACAGGCA 840
 CACAGGATCA CCTGTTGGG ATGCTGGATG GGGGGGGGAGGA CCTGGAGAGA GAGGAGAAC 900
 CTGACGCTGA CTCTGCTAT GAGACAGACT CGCGCTGGGA TGGTGCAGG CAGGACTTCG 960
 ATTCCAGGA CGACGCTGTC CACCACTCA ACAGTGAGCA TATCCACGGG GAGGGAAGG 1020
 AATTCGTTG CGATTGGGA GGTGCTCCA CGGAGCTGAG CGCTTCAAG CGCCAAATACA 1080
 TCGTGTGTG CGACATGCG ACACACACUG CGAGAAAGCC ACACAAAGTC ACCTTGAAG 1140
 CCTGTCGAA GTCATATCA CGCTTGAAA ACCTCAAGAC CGACCTTGG TGCGACACGG 1200
 GTGAGAAGG TTACATGTG GAGCAAGAAG GTGKGAACAA CGCTTCTACG AATGCACTG 1260
 ACCGGCCAA CGACCAAGAT CGACCCACT CGAATGAGAG CGCTAGCTG TGCAAGCTCC 1320
 CTCCTGCTAC CGACCTCTAC ACAGATCCG GTCCTCTCG CAAACACGTC AAGACAGTTC 1380
 ATGTCGCGA TGGCCAGTG ACCAGGGCG ACACGGGGG ATGACGGGCA TGCGCTCTG 1440
 AGCCCTCTC CACAGTGGAG CGAACGGCG AAAGGGGAGG AGGATGGGC AGGGAGAGA 1500
 CGAGACTGAC TGTCGGGAG AGTCCATCC CGAGGAGAC CGCGGGAGCG CAGTCCTCTT 1560
 CGAGCAAGG CGACCTCCCA CGGGGAGTG CGCCAAACAC CGACAGGGC GTGGAGATGG 1620
 CGGGCAACG CGGGGGGACG ATGGGGAGCT TTGCGCTT CGGAGAAGGA CCTTGTGTCT 1680
 CGGGAGGGG ACTTGTGAG CGTCGGGCGC TGGAGAACCT TAGGTGGAT CGCTGCTAC 1740
 AGCTCGGGCC CATACTGGCT CGGGCTCTCA AAGTGGGGAG CGTAAACCCAC CGTGGGGCAC 1800
 CTCTGCTCG CGCTCTGCG CGGGAGCTCT CGCTGGGACG CGGAGGAGG AGCTGCTAC 1860
 CGATGAGCTC CGCTTACACA CGACGGCGA CGCTGGGGCT CGCATGGCGT TGGGGGGG 1920
 GAACCCACG AGAGAAATGG TACATGTCAG TACCTGGCT CACACCTCTC CACCACTACA 1980
 TGCTGGCTC CGAGATACCT CGACGGCAAGG CGACTGGCAC CGCGCCACT CGAGCTCAC 2040
 CGCTGGATCG ATGGGAGCT CGTCTCTTCCT CGCTGGAG CGACGGGGCG GAGTACCGG 2100
 GATACAAACG AAATGCAAGG ATCACTGGGA CGCCAGCTGA CCCAGGGCGG GCTGTGACC 2160
 ACCGAGCTCC AGCCAGAGTC CAGGCGCTCA AGACCTCGG ATGTTCTCAC AGCGCCCTA 2220
 GTGTCGGCAAC AGGACGGAAAC TTGCGATCCC ACCACCTCTAC CTCTGCTCTAT CGCGCACAGC 2280
 CGGGCAACG CACCGAAAAT CGTCGCTCG ATACCTGGG CGTACAGGAG CGGGAGAGG 2340
 TTGGAACTIC CGTGATGGGC ATGCTGCTGA ACCCTACAT GGATTTTCTC TCCACTGATA 2400
 CTCTGGATA CGGGGGGACCG CGGGGGAGCG CGCTGCAUCC TTATGAGCT AGGGCTCAG 2460
 CGTCTCTGCC TCTTGCGGCT CGTCCAGAA CGAACATGG CGCTGGCCAC TGTCGGGAGC 2520
 AGGTCCTCTA CGCTGATCC CGCCAGAAA ACTGGGGTGA GTTCCTCTCT CGCTGCGGG 2580
 TGTACCTCTAG CGATAAGCT CGGGGGCTG CGTATAGCA GTGTCCTGCA TTGAGGAGT 2640
 ATGGAGAGCT CGAGTAAGA CGAGAACAGG CGTGGGGAGT CGCTGCTGAC TCGACGGGAT 2700
 CGGGCAACG CGTCAATGCC CACCGCACTG AAGGGTGGCG AGGGCGCGAG CGTCCTTTT 2760

67

68

CACATCATCC CCACTCTGGT CAGGCCACT ATGCCACAGTC GGGTCCTAT CCTCAGGCTC
 CCCATGGTTA TCTCTCAACA GAACCCAGGC TTGGCUTCAA TTTCACCCCG TCTCTCTC
 ATTCCACAGG ACACCTCAA GCTCAGCTGG TGTGTAAATTG CGTTCACTCG CAGGAGGAT
 TGTTCTGGGA CGGAAGAAC CGGGACGGGC TCCOCAACCA CGAACCTCCA TACCAAGGCC
 CCAAGTTCTG GGGGGTTCC CAAGTTACTC AGAGGCTCTGC CAAGACUCA GGAGCACCGG
 CGGCACCUATA TGGAGCTGGC TTTCACCTG CTTCGGCCAA TCACAAATCA GGCTCTATC
 CTGGGCTTC ACCCTCCAT GAAACTTCA CCTGGGAGT AAACAGGCTT TCCACAGGC
 CAGCAGCACC ACCCGACTT CTGGGGGGG TGTGGCTTG CTATGGCCC CTCAAGCTGG
 GGGGATCCAA CGCCACCTGT CGOCATCCTG AGGTGGGAGG GTTGGAGGA GGGCGTGGT
 TGTAACCTCC TCTGAAAGGG CAGGTGTGTA AOGCTCTGGA CTCTCTTGAC CTGGACAAACA
 CTGACCTGGA CTTTGTGCTT ATCTGAGATG AGGCCCCAGGC CCTGAGGCTT CTCTTTCCC
 ATGACAAAGG GGAAGGCTCTT AAAAACACCC CATCTCCCTC TGGRGGCCCC AGCATGAG
 TGGTAACAT GAGGCTCTG CTGGGGTCTC TCTCTGGAGA CACACAATTG CTCAACTCTA
 CTGCTAAAM CGGTAAGGAA CGXAAGCAG ATGGTATTTG CTAAATGGCT ACATGAGGTG
 CGAGGGATG CGAGGTTGG GCTGGGGCT GTATT

<210> 10

<211> 1111

<212> PRT

<213> Mouse

<400> 10

Met Phe Asn Pro Met Thr Pro Pro Glu Val Asn Ser Tyr Gly Glu Pro

1 5 10 15

Cys Cys Leu Arg Pro Leu His Ser Gln Gly Val Pro Ser Met Gly Thr

20 26 36

Glu Gly Leu Ser Gly Leu Pro Phe Cys His Gln Ala Asn Phe Met Ser

36 40 45

Gly Ser Gln Gly Tyr Gly Ala Ala Arg Gln Thr Ser Ser Cys Thr Glu

50 55 60

Gly Ser Leu Phe Pro Pro Pro Pro Pro Arg Ser Ser Val Lys Leu

65 70 75 80

Thr Lys Lys Arg Ala Leu Ser Ile Ser Pro Leu Ser Asp Ala Ser Leu

85 90 95

Asp Leu Gln Thr Val Ile Arg Thr Ser Pro Ser Ser Leu Val Ala Phe

100 105 110

Ile Asn Ser Arg Cys Thr Ser Pro Gly Gly Ser Tyr Gly His Leu Ser

115 120 125

Ile Gly Thr Met Ser Pro Ser Leu Gly Phe Pro Pro Glu Met Ser His

130 135 140

Gln Lys Gly Thr Ser Pro Pro Tyr Gly Val Gln Pro Cys Val Pro His

145 150 155 160

Asp Ser Thr Arg Gly Ser Met Leu His Pro Gln Ala Arg Gly Pro

165 170 175

Arg Ala Thr Cys Gln Leu Lys Ser Glu Leu Asp Met Met Val Gly Lys

180 185 190

Cys Pro Glu Asp Pro Leu Glu Gly Asp Met Ser Ser Pro Asn Ser Thr

195 200 205

Gly Thr Gln Asp His Leu Leu Gly Met Leu Asp Gly Arg Glu Asp Leu

210 215 220

Glu Arg Gln Gln Lys Pro Glu Pro Gln Ser Val Tyr Glu Thr Asp Cys

225 230 235 240

69

70

Arg Trp Asp Gly Cys Ser Gln Glu Phe Asp Ser Gln Gln Gln Leu Val
 245 250 255
 His His Ile Asn Ser Glu His Ile His His Gly Glu Arg Lys Glu Phe Val
 260 265 270
 Cys His Trp Gly Gly Cys Ser Arg Glu Leu Arg Pro Phe Lys Ala Gln
 275 280 285
 Tyr Met Leu Val Val His Met Arg Arg His Thr Gly Glu Lys Pro His
 290 295 300
 Lys Cys Thr Phe Glu Gly Cys Arg Lys Ser Tyr Ser Arg Leu Glu Asn
 305 310 315 320
 Leu Lys Thr His Leu Arg Ser His Thr Gly Glu Lys Pro Tyr Met Cys
 325 330 335
 Glu Gln Gln Gly Cys Ser Lys Ala Phe Ser Asn Ala Ser Asp Arg Ala
 340 345 350
 Lys His Gln Asp Arg Thr His Ser Asn Glu Lys Pro Tyr Val Cys Lys
 355 360 365
 Leu Pro Gly Cys Thr Lys Arg Tyr Thr Asp Pro Ser Ser Leu Arg Lys
 370 375 380
 His Val Lys Thr Val His Gly Pro Asp Ala His Val Thr Lys Arg His
 385 390 395 400
 Arg Gly Asp Gly Pro Leu Pro Arg Ala Gln Pro Leu Ser Thr Val Glu
 405 410 415
 Pro Lys Arg Glu Arg Glu Gly Gly Ser Gly Arg Glu Glu Ser Arg Leu
 420 425 430
 Thr Val Pro Gln Ser Ala Met Pro Gln Gln Ser Pro Gly Ala Gln Ser
 435 440 445
 Ser Cys Ser Ser Asp His Ser Pro Ala Gly Ser Ala Ala Asn Thr Asp
 450 455 460
 Ser Gly Val Glu Met Ala Gly Asn Ala Gly Gly Ser Thr Glu Asp Leu
 465 470 475 480
 Ser Ser Leu Asp Glu Gly Pro Cys Val Ser Ala Thr Gly Leu Ser Thr
 485 490 495
 Leu Arg Arg Leu Glu Asn Leu Arg Leu Asp Gln Leu His Gln Leu Arg
 500 505 510
 Pro Ile Gly Ser Arg Gly Leu Lys Leu Pro Ser Leu Thr His Ala Gly
 515 520 525
 Ala Pro Val Ser Arg Arg Leu Gly Pro Pro Val Ser Leu Asp Arg Arg
 530 535 540
 Ser Ser Ser Ser Ser Met Ser Ser Ala Tyr Thr Val Ser Arg Arg
 545 550 555 560
 Ser Ser Leu Ala Ser Pro Phe Pro Pro Gly Thr Pro Pro Glu Asn Gly
 565 570 575
 Ala Ser Ser Leu Pro Gly Leu Thr Pro Ala Glu His Tyr Met Leu Arg
 580 585 590
 Ala Arg Tyr Ala Ser Ala Arg Gly Ser Gly Thr Pro Pro Thr Ala Ala
 595 600 605
 His Ser Leu Asp Arg Met Gly Gly Leu Ser Val Pro Pro Trp Arg Ser
 610 615 620
 Arg Thr Glu Tyr Pro Gly Tyr Asn Pro Asn Ala Gly Val Thr Arg Arg
 625 630 635 640

71

72

Ala Ser Asp Pro Ala Arg Ala Ala Asp His Pro Ala Pro Ala Arg Val
 645 680 655
 Gln Arg Phe Lys Ser Leu Gly Cys Val His Thr Pro Pro Ser Val Ala
 660 688 670
 Thr Gly Arg Asn Phe Asp Pro His His Pro Thr Ser Val Tyr Ser Pro
 675 680 685
 Gln Pro Pro Ser Ile Thr Gln Asn Val Ala Met Asp Thr Arg Gly Leu
 690 695 700
 Gla Gla Gla Pro Glu Val Gly Thr Ser Val Met Gly Asn Gly Leu Asn
 705 710 715 720
 Pro Tyr Met Asp Phe Ser Ser Thr Asp Thr Leu Gly Tyr Gly Gly Pro
 725 730 735
 Glu Gly Thr Ala Ala Glu Pro Tyr Glu Ala Arg Gly Pro Gly Ser Leu
 740 745 750
 Pro Leu Gly Pro Gly Pro Pro Thr Asn Tyr Gly Pro Gly His Cys Ala
 755 760 765
 Gln Gln Val Ser Tyr Pro Asp Pro Thr Pro Glu Asn Trp Gly Gln Phe
 770 775 780
 Pro Ser His Ala Gly Val Tyr Pro Ser Asn Lys Ala Pro Gly Ala Ala
 785 790 795 800
 Tyr Ser Gln Cys Pro Arg Leu Glu His Tyr Gly Gln Val Gln Val Lys
 805 810 815
 Pro Glu Gln Gly Cys Pro Val Gly Ser Asp Ser Thr Gly Leu Ala Pro
 820 825 830
 Cys Leu Asn Ala His Pro Ser Glu Gly Ser Pro Gly Pro Gln Pro Leu
 835 840 845
 Phe Ser His His Pro Gln Leu Pro Gln Pro Gln Tyr Pro Gln Ser Gly
 850 855 860
 Pro Tyr Pro Gln Pro Pro His Gly Tyr Leu Ser Thr Gln Pro Arg Leu
 865 870 875 880
 Gly Leu Asn Phe Asn Pro Ser Ser Ser His Ser Thr Gly Gln Leu Lys
 885 890 895
 Ala Gln Leu Val Cys Asn Tyr Val Gln Ser Gln Gln Glu Leu Leu Trp
 900 905 910
 Glu Gly Arg Asn Arg Gly Gly Leu Pro Asn Gln Glu Leu Pro Tyr Gln
 915 920 925
 Ser Pro Lys Phe Leu Gln Gly Ser Gln Val Ser Gln Ser Pro Ala Lys
 930 935 940
 Thr Pro Ala Ala Ala Ala Ala Ala Tyr Gly Ser Gly Phe Ala Pro Ala
 945 950 955 960
 Ser Ala Asn His Lys Ser Gly Ser Tyr Pro Ala Pro Ser Pro Cys His
 965 970 975
 Glu Thr Phe Thr Val Gly Val Asn Arg Pro Ser His Arg Pro Ala Ala
 980 985 990
 Pro Pro Arg Leu Leu Pro Pro Leu Ser Pro Cys Tyr Gly Pro Leu Lys
 995 1000 1005
 Val Gly Asp Thr Asn Pro Ser Cys Gly His Pro Glu Val Gly Arg Leu
 1010 1015 1020
 Gly Ala Gly Pro Ala Leu Tyr Pro Pro Pro Gln Gly Gln Val Cys Asn
 1025 1030 1035 1040

73

74

Ala Leu Asp Ser Leu Asp Leu Asp Asn Thr Gln Leu Asp Phe Val Ala
 1045 1050 1055
 Ile Leu Asp Glu Ala Gln Gly Leu Ser Pro Pro Leu Ser His Glu Gln
 1060 1065 1070
 Gly Asp Ser Ser Lys Asn Thr Pro Ser Pro Ser Gly Pro Pro Asn Met
 1075 1080 1085
 Ala Val Gly Asn Met Ser Val Leu Leu Gly Ser Leu Pro Gly Gln Thr
 1090 1095 1100
 Gln Phe Leu Asn Ser Ser Ala
 1105 1110
 <210> 11
 <211> 1106
 <212> PRT
 <213> Hussain
 <400> 11
 Met Phe Asn Ser Met Thr Pro Pro Pro Ile Ser Ser Tyr Gly Glu Pro
 1 5 10 15
 Cys Cys Leu Arg Pro Leu Pro Ser Gln Gly Ala Pro Ser Val Gly Thr
 20 25 30

 Gln Gly Leu Ser Gly Pro Pro Phe Cys His Gln Ala Asn Leu Met Ser
 35 40 45
 Gly Pro His Ser Tyr Gly Pro Ala Arg Glu Thr Asn Ser Cys Thr Glu
 50 55 60
 Gly Pro Leu Phe Ser Ser Pro Arg Ser Ala Val Lys Leu Thr Lys Lys
 65 70 75 80
 Arg Ala Leu Ser Ile Ser Pro Leu Ser Asp Ala Ser Leu Asp Leu Gln
 85 90 95
 Thr Val Ile Arg Thr Ser Pro Ser Ser Leu Val Ala Phe Ile Asn Ser
 100 105 110
 Arg Cys Thr Ser Pro Gly Gly Ser Tyr Gly His Leu Ser Ile Gly Thr
 115 120 125
 Met Ser Pro Ser Leu Gly Phe Pro Ala Gln Met Asn His Gln Lys Gly
 130 135 140
 Pro Ser Pro Ser Phe Gly Val Gln Pro Cys Gly Pro His Asp Ser Ala
 145 150 155 160
 Arg Gly Gly Met Ile Pro His Pro Gln Ser Arg Gly Pro Phe Pro Thr
 165 170 175
 Cys Gln Leu Lys Ser Gln Leu Asp Met Leu Val Gly Lys Cys Arg Glu
 180 185 190
 Gln Pro Leu Glu Gly Asp Met Ser Ser Pro Asn Ser Thr Gly Ile Gln
 195 200 205
 Asp Pro Leu Leu Gly Met Leu Asp Gly Arg Gln Asp Leu Gln Arg Glu
 210 215 220
 Glu Lys Arg Glu Pro Glu Ser Val Tyr Glu Thr Asp Cys Arg Trp Asp
 225 230 235 240
 Gly Cys Ser Gln Gln Phe Asp Ser Gln Gln Gln Leu Val His His Ile
 245 250 255
 Asn Ser Gln His Ile His Gly Glu Arg Lys Glu Phe Val Cys His Trp
 260 265 270

75

76

Gly Gly Cys Ser Arg Glu Leu Arg Pro Phe Lys Ala Gln Tyr Met Leu
 275 280 285
 Val Val His Met Arg Arg His Thr Gly Glu Lys Pro His Lys Cys Thr
 290 295 300
 Phe Glu Gly Cys Arg Lys Ser Tyr Ser Arg Leu Glu Asn Leu Lys Thr
 305 310 315 320
 His Leu Arg Ser His Thr Gly Glu Lys Pro Tyr Met Cys Glu His Gln
 325 330 335

Gly Cys Ser Lys Ala Phe Ser Asn Ala Ser Asp Arg Ala Lys His Gln
 340 345 350
 Asn Arg Thr His Ser Asn Glu Lys Pro Tyr Val Cys Lys Leu Pro Gly
 355 360 365
 Cys Thr Lys Arg Tyr Thr Asp Pro Ser Ser Leu Arg Lys His Val Lys
 370 375 380
 Thr Val His Gly Pro Asp Ala His Val Thr Lys Arg His Arg Gly Asp
 385 390 395 400
 Gly Pro Leu Pro Arg Ala Pro Ser Ile Ser Thr Val Glu Pro Lys Arg
 405 410 415
 Glu Arg Glu Gly Gly Pro Ile Arg Glu Glu Ser Arg Leu Thr Val Pro
 420 425 430
 Glu Gly Ala Met Lys Pro Gln Pro Ser Pro Gly Ala Gln Ser Ser Cys
 435 440 445
 Ser Ser Asp His Ser Pro Ala Gly Ser Ala Ala Asn Thr Asp Ser Gly
 450 455 460
 Val Glu Met Thr Gly Asn Ala Gly Gly Ser Thr Glu Asp Leu Ser Ser
 465 470 475 480
 Leu Asp Glu Gly Pro Cys Ile Ala Gly Thr Gly Leu Ser Thr Leu Arg
 485 490 495

Arg Leu Glu Asn Leu Arg Leu Asp Glu Leu His Gln Leu Arg Pro Ile
 500 505 510
 Gly Thr Arg Gly Leu Lys Leu Pro Ser Leu Ser His Thr Gly Thr Thr
 515 520 525
 Val Ser Arg Arg Val Gly Pro Pro Val Ser Leu Glu Arg Arg Ser Ser
 530 535 540
 Ser Ser Ser Ser Ile Ser Ser Ala Tyr Thr Val Ser Arg Arg Ser Ser
 545 550 555 560
 Leu Ala Ser Pro Phe Pro Pro Gly Ser Pro Pro Glu Asn Gly Ala Ser
 565 570 575
 Ser Leu Pro Gly Leu Met Pro Ala Gln His Tyr Leu Leu Arg Ala Arg
 580 585 590
 Tyr Ala Ser Ala Arg Gly Gly Thr Ser Pro Thr Ala Ala Ser Ser
 595 600 605
 Leu Asp Arg Ile Gly Gly Leu Pro Met Pro Pro Trp Arg Ser Arg Ala
 610 615 620
 Gln Tyr Pro Gly Tyr Asn Pro Asn Ala Gly Val Thr Arg Arg Ala Ser
 625 630 635 640
 Asp Pro Ala Gln Ala Ala Asp Arg Pro Ala Pro Ala Arg Val Gln Arg
 645 650 655

77

78

Phe Lys Ser Leu Gly Cys Val His Thr Pro Pro Thr Val Ala Gly Gly
 660 665 670
 Gly Gln Asn Phe Asp Pro Tyr Leu Pro Thr Ser Val Tyr Ser Pro Gln
 675 680 685
 Pro Pro Ser Ile Thr Glu Asn Ala Ala Met Asp Ala Arg Gly Leu Gln
 690 695 700
 Gln Glu Pro Glu Val Gly Thr Ser Met Val Gly Ser Gly Leu Asn Pro
 705 710 715 720
 Tyr Met Asp Phe Pro Pro Thr Asp Thr Leu Gly Tyr Gly Gly Pro Gln
 725 730 735
 Gly Ala Ala Ala Glu Pro Tyr Gly Ala Arg Gly Pro Gly Ser Leu Pro
 740 745 750
 Leu Gly Pro Gly Pro Pro Thr Asn Tyr Gly Pro Asn Pro Cys Pro Gln
 755 760 765
 Gln Ala Ser Tyr Pro Asp Pro Thr Gln Gln Thr Trp Gly Gln Phe Pro
 770 775 780
 Ser His Ser Gly Leu Tyr Pro Gly Pro Lys Ala Leu Gly Gly Thr Tyr
 785 790 795 800

 Ser Gln Cys Pro Arg Leu Gln His Tyr Gly Gln Val Gln Val Lys Pro
 805 810 815
 Glu Gln Gly Cys Pro Val Gly Ser Asp Ser Thr Gly Leu Ala Pro Cys
 820 825 830
 Leu Asn Ala His Pro Ser Gln Gly Pro Pro His Pro Gln Pro Leu Phe
 835 840 845
 Ser His Tyr Pro Gln Pro Ser Pro Pro Gln Tyr Leu Gln Ser Gly Pro
 850 855 860
 Tyr Thr Gln Pro Pro Pro Asp Tyr Leu Pro Ser Glu Pro Arg Pro Cys
 865 870 875 880
 Leu Asp Phe Asp Ser Pro Thr His Ser Thr Gly Gln Leu Lys Ala Gln
 885 890 895
 Leu Val Cys Asn Tyr Val Gln Ser Gln Gln Leu Leu Trp Glu Gly
 900 905 910
 Gly Gly Arg Gln Asp Ala Pro Ala Gln Gln Pro Ser Tyr Gln Ser Pro
 915 920 925
 Lys Phe Leu Gly Gly Ser Gln Val Ser Pro Ser Arg Ala Lys Ala Pro
 930 935 940
 Val Asn Thr Tyr Gly Pro Gly Phe Gly Pro Asn Leu Pro Asn His Lys
 945 950 955 960

 Ser Gly Ser Tyr Pro Thr Pro Ser Pro Cys His Gln Asn Phe Val Val
 965 970 975
 Gly Ala Asn Arg Ala Ser His Arg Ala Ala Ala Pro Pro Arg Leu Leu
 980 985 990
 Pro Pro Leu Pro Thr Cys Tyr Gly Pro Leu Lys Val Gly Gly Thr Asn
 995 1000 1005
 Pro Ser Cys Gly His Pro Gln Val Gly Arg Leu Gly Gly Gly Pro Ala
 1010 1015 1020
 Leu Tyr Pro Pro Pro Gln Gly Gln Val Cys Asn Pro Leu Asp Ser Leu
 1025 1030 1035 1040

79

80

Asp Leu Asp Asn Thr Gln Leu Asp Phe Val Ala Ile Leu Asp Glu Pro

1045 1050 1055

Gln Gly Leu Ser Pro Pro Pro Ser His Asp Gln Arg Gly Ser Ser Gly

1060 1065 1070

His Thr Pro Pro Pro Ser Gly Pro Pro Asn Met Ala Val Gly Asn Met

1075 1080 1085

Ser Val Leu Leu Arg Ser Leu Pro Gly Glu Thr Gln Phe Leu Asn Ser

1090 1095 1100

Ser Ala

1105

<210> 12

<211> 3600

<212> DNA

<213> Human

<400> 12

cccggcgatcc agcccccggcc cggccatccccc gggccacccgc cggccatccccc 60
 ccgtttccatc gagggccatc gtccaaatccatc atggccatccccc ccccaatccatc tagttatggc 120
 gggccatccatc gtccatccatc ccccccacatc cggggggccccc ccggccatccccc 180
 ctgtttccatc egcccttccatc ccacccatccatc aaccatccatc tccggccatccccc ccgtttatggc 240
 ccggccatccatc agggccatccatc atggccatccatc ttccatccatc ccggccatccatc 300
 gttccatccatc ccggccatccatc ggcactgtcc attcacccatc tgccggatgc ccggccatccatc 360
 ctggccatccatc ttccatccatc ccccccacatc tccggccatccatc ccggccatccatc 420
 acatccatccatc gagggccatccatc ccacccatccatc ccgtttatggc ccgtttatggc 480
 ttccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccccccacatc ccccccacatc ccccccacatc 540
 ggccatccatc acatccatccatc gggccatccatc atccatccatc ccccccacatc ccggccatccatc 600
 ccacccatccatc acggccatccatc tccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 660
 ttggccatccatc atccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 720
 ctggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 780
 acatccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 840
 ccacccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 900
 tggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 960
 ccacccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1020
 ctggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1080
 ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1140
 ccacccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1200
 gtccatccatc ccgtttatggc ccgtttatggc ccgtttatggc ccgtttatggc ccgtttatggc 1260
 aacccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1320
 ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1380
 ccacccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1440
 ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1500
 acatccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1560
 ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1620
 ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1680
 ccacccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1740
 ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1800
 ccacccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1860
 ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1920
 ccacccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 1980
 ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 2040
 ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc ccggccatccatc 2100

81

82

aacttggat tttaatccc sacccttgtc tactcaaccc agccccccag caatgttgag 2180
 atgttgtcca tggatgttag agggatcacg gaaagcccg aatgtggac ctccatggat 2220
 ggcagtggc tgaacccca tattggatcc cccatctacg atatctggg atatggggaa 2260
 ccggaaaggcc cccggatggc gctttatggc gggggggcc caggctctt gcttttggc 2300
 ctgtgtccat cccatcaatc tgcccccaccc cccatgttcc acggatccat atatctggc 2340
 ccacatccgg agacatggc tggatgttcc tccatcttcg ggatgttcc agggcccaag 2380
 gtcttaggg gaaatgttcc ttttttttttccatggc ttttttttttccatggc agtgcatagtc 2420
 aagccggaa cgggggtggcc agtggggctt gatccatggc gatccatggc ctgcctcaat 2460
 gccccccccc gtggggggcc cccatccatc cagctcttcc ttccatccat cccggatggc 2500
 ttccatccatc aatatcttcc gtcaggcccc tttatccatggc tttatccatggc 2540
 tttatccatggc gggatgttcc tccatccatc atccatccatggc gatccatggc 2580
 gatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 2620
 aatggaaatgg cccatccatcc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 2660
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 2700
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 2740
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 2780
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 2820
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 2860
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 2900
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 2940
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 2980
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3020
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3060
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3100
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3140
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3180
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3220
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3260
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3300
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3340
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3380
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3420
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3460
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3500
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3540
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3580
 tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc tttatccatggc 3620
 <210> 13
 <211> 1106
 <212> PRT
 <213> Human
 <400> 13

Met Pro Asn Ser Met Thr Pro Pro Pro Ile Ser Ser Tyr Gly Glu Pro

1	5	10	15
---	---	----	----

Cys Cys Leu Arg Pro Leu Pro Ser Glu Gly Ala Pro Ser Val Gly Thr

20	25	30
----	----	----

Glu Gly Leu Ser Gly Pro Pro Phe Cys His Glu Ala Asn Leu Met Ser

35	40	45
----	----	----

Gly Pro His Ser Tyr Gly Pro Ala Arg Glu Thr Asn Ser Cys Thr Glu

50	55	60
----	----	----

Gly Pro Leu Phe Ser Ser Pro Arg Ser Ala Val Lys Leu Thr Lys Lys

65	70	75	80
----	----	----	----

Arg Ala Leu Ser Ile Ser Pro Leu Ser Asp Ala Ser Leu Asp Leu Glu

85	90	95
----	----	----

Thr Val Ile Arg Thr Ser Pro Ser Leu Val Ala Phe Ile Asn Ser

100	105	110
-----	-----	-----

Arg Cys Thr Ser Pro Gly Gly Ser Tyr Gly His Leu Ser Ile Gly Thr

115	120	125
-----	-----	-----

Ser Ser Pro Ser Leu Gly Phe Pro Ala Glu Met Asn His Glu Lys Gly

130	135	140
-----	-----	-----

Pro Ser Pro Ser Phe Gly Val Glu Pro Cys Gly Pro His Asp Ser Ala

83

84

145	150	155	160
Arg Gly Gly Met Ile Pro His Pro Gln Ser Arg Gly Pro Phe Pro Thr			
165	170	175	
Cys Gin Leu Lys Ser Glu Leu Asp Met Leu Val Gly Lys Cys Arg Glu			
180	185	190	
Glu Pro Leu Glu Gly Asp Met Ser Ser Pro Asn Ser Thr Gly Ile Ala			
195	200	205	
Asp Pro Leu Leu Gly Met Leu Asp Gly Arg Glu Asp Leu Glu Arg Glu			
210	215	220	
Glu Lys Arg Glu Pro Glu Ser Val Tyr Glu Thr Asp Cys Arg Trp Asp			
225	230	235	240
Gly Cys Ser Gln Glu Phe Asp Ser Glu Glu Gln Leu Val His His Ile			
245	250	255	
Asn Ser Glu His Ile His Gly Glu Arg Lys Glu Phe Val Cys His Trp			
260	265	270	
Gly Gly Cys Ser Arg Glu Leu Arg Pro Phe Lys Ala Gin Tyr Met Leu			
275	280	285	
Val Val His Met Arg Arg His Thr Gly Glu Lys Pro His Lys Cys Thr			
290	295	300	
Phe Glu Gly Cys Arg Lys Ser Tyr Ser Arg Leu Glu Asn Leu Lys Thr			
305	310	315	320
His Leu Arg Ser His Thr Gly Glu Lys Pro Tyr Met Cys Gin His Glu			
325	330	335	
Gly Cys Ser Lys Ala Phe Ser Asn Ala Ser Asp Arg Ala Lys His Glu			
340	345	350	
Asn Arg Thr His Ser Asn Glu Lys Pro Tyr Val Cys Lys Leu Pro Gly			
355	360	365	
Cys Thr Lys Arg Tyr Thr Asp Pro Ser Ser Leu Arg Lys His Val Lys			
370	375	380	
Thr Val His Gly Pro Asp Ala His Val Thr Lys Arg His Arg Gly Asp			
385	390	395	400
Gly Pro Leu Pro Arg Ala Pro Ser Ile Ser Thr Val Glu Pro Lys Arg			
405	410	415	
Glu Arg Glu Gly Gly Pro Ile Arg Glu Glu Ser Arg Leu Thr Val Pro			
420	425	430	
Glu Gly Ala Met Lys Pro Gln Pro Ser Pro Gly Ala Glu Ser Ser Cys			
435	440	445	
Ser Ser Asp His Ser Pro Ala Gly Ser Ala Ala Asn Thr Asp Ser Gly			
450	455	460	
Val Glu Met Thr Gly Asn Ala Gly Gly Ser Thr Glu Asp Leu Ser Ser			
465	470	475	480
Leu Asp Glu Gly Pro Cys Ile Ala Gly Thr Gly Leu Ser Thr Leu Arg			
485	490	495	
Arg Leu Glu Asn Leu Arg Leu Asp Gln Leu His Gln Leu Arg Pro Ile			
500	505	510	
Gly Thr Arg Gly Leu Lys Leu Pro Ser Leu Ser His Thr Gly Thr Thr			
515	520	525	
Val Ser Arg Arg Val Gly Pro Pro Val Ser Leu Glu Arg Arg Ser Ser			

85.

86.

530	535	540
Ser Ser Ser Ser Ile Ser Ser Ala Tyr Thr Val Ser Arg Arg Ser Ser		
545	550	555
Ieu Ala Ser Pro Phe Pro Pro Gly Ser Pro Pro Glu Asn Gly Ala Ser		
565	570	575
Ser Leu Pro Gly Leu Met Pro Ala Gln His Tyr Leu Leu Arg Ala Arg		
580	585	590
Tyr Ala Ser Ala Arg Gly Gly Thr Ser Pro Thr Ala Ala Ser Ser		
595	600	605
Leu Asp Arg Ile Gly Gly Leu Pro Met Pro Pro Trp Arg Ser Arg Ala		
610	615	620
Glu Tyr Pro Gly Tyr Asn Pro Asn Ala Gly Val Thr Arg Arg Ala Ser		
625	630	635
Asp Pro Ala Gln Ala Ala Asp Arg Pro Ala Pro Ala Arg Val Gln Arg		
645	650	655
Phe Lys Ser Leu Gly Cys Val His Thr Pro Pro Thr Val Ala Gly Gly		
660	665	670
Gly Gln Asn Phe Asp Pro Tyr Leu Pro Thr Ser Val Tyr Ser Pro Gln		
675	680	685
Pro Pro Ser Ile Thr Gln Asn Ala Ala Met Asp Ala Arg Gly Leu Gln		
690	695	700
Glu Glu Pro Gln Val Gly Thr Ser Met Val Gly Ser Gly Leu Asn Pro		
705	710	715
Tyr Met Asp Phe Pro Pro Thr Asp Thr Leu Gly Tyr Gly Pro Glu		
725	730	735
Gly Ala Ala Ala Glu Pro Tyr Gly Ala Arg Gly Pro Gly Ser Leu Pro		
740	745	750
Leu Gly Pro Gly Pro Pro Thr Asn Tyr Gly Pro Asn Pro Cys Pro Gln		
755	760	765
Gln Ala Ser Tyr Pro Asp Pro Thr Gln Gln Thr Trp Gly Gln Phe Pro		
770	775	780
Ser His Ser Gly Leu Tyr Pro Gly Pro Lys Ala Leu Gly Gly Thr Tyr		
785	790	795
Ser Gln Cys Pro Arg Leu Gln His Tyr Gly Gln Val Gln Val Lys Pro		
805	810	815
Gln Gln Gly Cys Pro Val Gly Ser Asp Ser Thr Gly Leu Ala Pro Cys		
820	825	830
Leu Asn Ala His Pro Ser Gln Gly Pro Pro His Pro Gln Pro Leu Phe		
835	840	845
Ser His Tyr Pro Gln Pro Ser Pro Pro Gln Tyr Leu Gln Ser Gly Pro		
850	855	860
Tyr Thr Gln Pro Pro Pro Asp Tyr Leu Pro Ser Gln Pro Arg Pro Cys		
865	870	875
Leu Asp Phe Ala Ser Pro Thr His Ser Thr Gly Gln Leu Lys Ala Gln		
885	890	895
Leu Val Cys Asn Tyr Val Gln Ser Gln Gln Glu Leu Leu Trp Gln Gly		
900	905	910
Gly Gly Arg Gln Asp Ala Pro Ala Gln Glu Pro Ser Tyr Gln Ser Pro		
915	920	925

(48)

時間 2 0 0 2 - 3 5 6 4 3 7

87

88

Lys Phe Leu Gly Gly Ser Glu Val Ser Pro Ser Arg Ala Lys Ala Pro
 930 935 940
 Val Asn Thr Tyr Gly Pro Gly Phe Gly Pro Asn Leu Pro Asn His Lys
 945 950 955 960
 Ser Gly Ser Tyr Pro Thr Pro Ser Pro Cys His Glu Asn Phe Val Val
 965 970 975
 Gly Ala Asn Arg Ala Ser His Arg Ala Ala Ala Pro Pro Arg Leu Leu
 980 985 990

Pro Pro Leu Pro Thr Cys Tyr Gly Pro Leu Lys Val Gly Gly Thr Asn
 995 1000 1005
 Pro Ser Cys Gly His Pro Glu Val Gly Arg Leu Gly Gly Pro Ala
 1010 1015 1020
 Leu Tyr Pro Pro Pro Glu Gly Glu Val Cys Asn Pro Leu Asp Ser Leu
 1025 1030 1035 1040
 Asp Leu Asp Asn Thr Glu Leu Asp Phe Val Ala Ile Leu Asp Glu Pro
 1045 1050 1055
 Glu Gly Leu Ser Pro Pro Pro Ser His Asp Glu Arg Gly Ser Ser Gly
 1060 1065 1070
 His Thr Pro Pro Pro Ser Gly Pro Pro Asn Met Ala Val Gly Asn Met
 1075 1080 1085
 Ser Val Leu Leu Arg Ser Leu Pro Gly Glu Thr Glu Phe Leu Asn Ser
 1090 1095 1100
 Ser Ala
 1105
 <210> 14
 <211> 3600
 <212> DNA
 <213> Human

<480> 14

ccggccatcc agccccggcc cggccatccc gggcccgccg ccggccatccaa gtgtttccatc 60
 acatccatcc gagggccatc gttaacttcgt atggcccccac caaccatccatc tagctatggc 120
 gggccatgtc gtatccggcc ctccccatgc caggggcccc ecagtggtgg gacagaaatgg 180
 ctgtatggcc cggccatccatc ecaccatgc aaccatgtc ecggccatccaa cagtatggc 240
 ccggccatcc agggccatcc cggccatccatc ggccatccatc tttttttttcc cggggatggca 300
 gtcasgttgc caaaaatggcc gggccatccatc atttttttcc ttgtggatgc cggccatggc 360
 ctggatggcc ttatccatcc cttttttttcc tcccttgtatc ctccatccaa ctcggatgtc 420
 acatccatcc gagggccatcc cggccatccatc tcattttggcc ctatccatccatc tttttttggc 480
 tttccatccatc agatccatcc caaaaaatggcc cccatccatccatc cttttttttcc cttttttttcc 540
 gggccatccatc atttttttcc atccatccatcc cttttttttcc cttttttttcc 600
 ccacatccatcc atgttgcatcc tggtggatgc atccatccatcc atccatccatcc 660
 ttggatggcc atatccatcc cccatccatcc acatccatccatcc aggtttttcc ttgtggatgc 720
 ctggatggcc gggggccatcc cggccatccatcc cggccatccatcc cttttttttcc 780
 atgttgcatcc ttgtggatgc cttttttttcc cttttttttcc cttttttttcc 840
 cacatccatcc gggggccatcc cccatccatcc cttttttttcc cttttttttcc 900
 ttgtccatcc agtggatgc cttttttttcc cttttttttcc cttttttttcc 960
 cacatccatcc agatccatcc cttttttttcc cttttttttcc cttttttttcc 1020
 cttttttttcc tggatggatgc cttttttttcc cttttttttcc cttttttttcc 1080
 cccatccatcc tggatggatgc cttttttttcc cttttttttcc cttttttttcc 1140

89 99
accccaitcca atgaggagcc giatgtatgi aagtctccctg gctgcacena acgetatsea 1200
gatecttagei egcigegaaa acaigtcaeg acagtgcattt gicctgaucg ccaigigacc 1260
aaarggcacc gtggggatgg croccigoci cgggraccat ccattttca agtgaggagcc 1320
aagagggagg ggganggggg icccacagg gggaaagcc gaetgacigt gcccaggggt 1380
gcattgaagc caaccccaag ccrtggggcc cagtcatactt geagcagiga ccactcccc 1440
goasggggc gaggccatcc agacagtggtt gtggaaatga ctggaaatgg agggggccgg 1500
acigangac teicccatgg ggacgaggga ctttccatgg ctggaaatgg teicccatgg 1560
cttgcggcc ttggaaatcc cnggtggcc caputacate aactccggcc astaggacc 1620
cggggictca aatgtggccgg ctggcccaac accggtaacc ctggccccc cggcgiggcc 1680
cccccsgtctt ttttggccgg ccgeagccgg agtcctccgg gcaicccgic tgcctatct 1740
gtcageccgc gcicctccctt ggccttcirct tcccccctg gcicccacc agagaaigga 1800
guatccctcc tgcctgggtt taicccggcc cagccctacc tgcctgggtt sagatatgtt 1860
lincgcagag gggstgttatc tccgcctact gcaaccaicca gctggates gatgggttgt 1920
tcccccattgc tcccttggag aagccggccg gagttatccgg gatccacacc cttttgggg 1980
gtttacccggg gggccatgtt gccagcccg gctgtgacc gctgtgtcc agttagatgc 2040
ccagggttcc agagecttggg ctgtgicntt accccaccca ctggggccgg gggggggcc 2100
macitgtatc cttatcttgc facieccac acccccccgg catcacigag 2160
mtgtgttcc tggatgtccg agggccatgg gaagagccgg aatgtgggtt tccatgtt 2220
tggccatggcc tggaaatcc tttggacttcc ccccccattt atatctggg tttttgggg 2280
acttgaaggcc cagoagciga gcttataggc gggggggcc cagcccttcc gcttcttggg 2340
tccggccatcc ccaccaatc tggcccttcc accgttccgg agcaggccctt atatcttgc 2400
ccctccatccaaag aaaaatgggg tgatgttcc tccacttgc ggtgttccgg aggcccccaag 2460
gcicctagggtt gacccatccag ccagtgttcc gcaatggacc atatggacc agtgcacatgc 2520
ccggccatccaaac aggggttccgg aggggggtt gatccacccg gatggccctt cttttttccatgg 2580
cccccacccca gtggggcccc cccacatcc cagcccttcc tttccatgg ccccccggcc 2640
ttttttccatggcc aatatcttcc gtcaggccccc tttttccatgg ccccccatttcc tttatcttcc 2700
ttttttccatggcc ggccttgcctt ggcattttgc tcccccatttcc tttccatggcc gggccatggcc 2760
gttcatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc gggccatggcc 2820
ggggaaatggcc ccccccggcc gggccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 2880
ttttttccatggcc ccggccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 2940
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3000
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3060
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3120
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3180
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3240
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3300
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3360
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3420
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3480
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3540
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3600
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3660
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3720
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3780
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3840
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3900
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 3960
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4020
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4080
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4140
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4200
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4260
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4320
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4380
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4440
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4500
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4560
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4620
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4680
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4740
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4800
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4860
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4920
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 4980
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5040
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5100
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5160
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5220
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5280
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5340
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5400
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5460
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5520
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5580
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5640
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5700
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5760
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5820
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5880
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 5940
ttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc tttttttccatggcc 6000

§ 81D-1106
1000-1000

2120 PRO
2120 MUL

2432 WANG

2400 15

Mot. Pho A

1

Cys Cys Leu Arg Pro Leu Pro Ser Glu Gly Ala Pro Ser Val Gly Thr

20 25 30

91		92	
Glu Gly Leu Ser Gly Pro Pro Phe Cys His Gln Ala Asn Leu Met Ser 35	40	45	
Gly Pro His Ser Tyr Gly Pro Ala Arg Glu Thr Asn Ser Cys Thr Glu 50	55	60	
Gly Pro Leu Phe Ser Ser Pro Arg Ser Ala Val Lys Leu Thr Lys Lys 65	70	75	80
Arg Ala Leu Ser Ile Ser Pro Leu Ser Asp Ala Ser Leu Asp Leu Gln 85	90	95	
Thr Val Ile Arg Thr Ser Pro Ser Ser Leu Val Ala Phe Ile Asn Ser 100	105	110	
Arg Cys Thr Ser Pro Pro Gly Gly Ser Tyr Gly His Leu Ser Ile Gly Thr 115	120	125	
Met Ser Pro Ser Leu Gly Phe Pro Ala Gln Met Asn His Gln Lys Gly 130	135	140	
Pro Ser Pro Ser Phe Gly Val Gln Pro Cys Gly Pro His Asp Ser Ala 145	150	155	160
Arg Gly Gly Met Ile Pro His Pro Glu Ser Arg Gly Pro Phe Pro Thr 165	170	175	
Cys Gln Leu Lys Ser Glu Leu Asp Met Leu Val Gly Lys Cys Arg Glu 180	185	190	
Glu Pro Leu Glu Gly Asp Met Ser Ser Pro Asp Ser Thr Gly Ile Gln 195	200	205	
Asp Pro Leu Leu Gly Met Leu Asp Gly Arg Glu Asp Leu Gln Arg Glu 210	215	220	
Gln Lys Arg Glu Pro Gln Ser Val Tyr Glu Thr Asp Cys Arg Trp Asp 225	230	235	240
Gly Cys Ser Gln Gln Phe Asp Ser Gln Gln Leu Val His His Ile 245	250	255	
Asn Ser Gln His Ile His Gly Gln Arg Lys Glu Phe Val Cys His Trp 260	265	270	
Gly Gly Cys Ser Arg Gln Leu Arg Pro Phe Lys Ala Gln Tyr Met Leu 275	280	285	
Val Val His Met Arg Arg His Thr Gly Gln Lys Pro His Lys Cys Thr 290	295	300	
Phe Glu Gly Cys Arg Lys Ser Tyr Ser Arg Leu Gln Asn Leu Lys Thr 305	310	315	320
His Leu Arg Ser His Thr Gly Gln Lys Pro Tyr Met Cys Gln His Glu 325	330	335	
Gly Cys Ser Lys Ala Phe Ser Asn Ala Ser Asp Arg Ala Lys His Glu 340	345	350	
Asn Arg Thr His Ser Asn Glu Lys Pro Tyr Val Cys Lys Leu Pro Gly 355	360	365	
Cys Thr Lys Arg Tyr Thr Asp Pro Ser Ser Leu Arg Lys His Val Lys 370	375	380	
Thr Val His Gly Pro Asp Ala His Val Thr Lys Arg His Arg Gly Asp 385	390	395	400
Gly Pro Leu Pro Arg Ala Pro Ser Ile Ser Thr Val Glu Pro Lys Arg 405	410	415	

(48)

轉譯 2 0 0 2 - 3 5 6 4 3 7

93

94

Glu Arg Glu Gly Gly Pro Ile Arg Glu Glu Ser Arg Leu Thr Val Pro
 420 423 426
 Glu Gly Ala Met Lys Pro Glu Pro Ser Pro Gly Ala Glu Ser Ser Cys
 433 440 443
 Ser Ser Asp His Ser Pro Ala Gly Ser Ala Ala Asn Thr Asp Ser Gly
 450 455 460
 Val Glu Met Thr Gly Asn Ala Gly Gly Ser Thr Glu Asp Leu Ser Ser
 465 470 475 480
 Leu Asp Glu Gly Pro Cys Ile Ala Gly Thr Gly Leu Ser Thr Leu Arg
 485 490 495
 Arg Leu Glu Asn Leu Arg Leu Asp Glu Leu His Glu Leu Arg Pro Ile
 500 505 510
 Gly Thr Arg Gly Leu Lys Leu Pro Ser Leu Ser His Thr Gly Thr Thr
 515 520 525
 Val Ser Arg Arg Val Gly Pro Pro Val Ser Leu Glu Arg Arg Ser Ser
 530 535 540
 Ser Ser Ser Ser Ile Ser Ser Ala Tyr Thr Val Ser Arg Arg Ser Ser
 545 550 555 560
 Leu Ala Ser Pro Phe Pro Pro Gly Ser Pro Pro Glu Asn Gly Ala Ser
 565 570 575
 Ser Leu Pro Gly Ile Met Pro Ala Glu His Tyr Leu Leu Arg Ala Arg
 580 585 590
 Tyr Ala Ser Ala Arg Gly Gly Gly Thr Ser Pro Thr Ala Ala Ser Ser
 595 600 605
 Leu Asp Arg Ile Gly Gly Leu Pro Met Pro Pro Trp Arg Ser Arg Ala
 610 615 620
 Glu Tyr Pro Gly Tyr Asn Pro Asn Ala Gly Val Thr Arg Arg Ala Ser
 625 630 635 640
 Asp Pro Ala Glu Ala Ala Asp Arg Pro Ala Pro Ala Arg Val Glu Arg
 645 650 655
 Phe Lys Ser Leu Gly Cys Val His Thr Pro Pro Thr Val Ala Gly Gly
 660 665 670
 Gly Glu Asn Phe Asp Pro Tyr Leu Pro Thr Ser Val Tyr Ser Pro Glu
 675 680 685
 Pro Pro Ser Ile Thr Glu Asn Ala Ala Met Asp Ala Arg Gly Leu Glu
 690 695 700
 Glu Glu Pro Glu Val Gly Thr Ser Met Val Gly Ser Gly Leu Asn Pro
 705 710 715 720

 Tyr Met Asp Phe Pro Pro Thr Asp Thr Leu Gly Tyr Gly Gly Pro Glu
 725 730 735
 Gly Ala Ala Ala Glu Pro Tyr Gly Ala Arg Gly Pro Gly Ser Leu Pro
 740 745 750
 Leu Gly Pro Gly Pro Pro Thr Asn Tyr Gly Pro Asn Pro Cys Pro Glu
 755 760 765
 Glu Ala Ser Tyr Pro Asp Pro Thr Glu Glu Thr Pro Gly Glu Phe Pro
 770 775 780
 Ser His Ser Gly Leu Tyr Pro Gly Pro Lys Ala Leu Gly Gly Thr Tyr
 785 790 795 800
 Ser Glu Cys Pro Arg Leu Glu His Tyr Gly Glu Val Glu Val Lys Pro

23

135

805	810	815
Gly Glu Gly Cys Pro Val Gly Ser Asp Ser Thr Gly Leu Ala Pro Cys		
820	825	830
Ile Asn Ala His Pro Ser Glu Gly Pro Pro His Pro Glu Pro Leu Phe		
835	840	845
Ser His Tyr Pro Gin Pro Ser Pro Pro Gin Tyr Leu Glu Ser Gly Pro		
850	855	860
Tyr Thr Gin Pro Pro Pro Asp Tyr Leu Pro Ser Glu Pro Arg Pro Cys		
865	870	875
		880
Leu Asp Phe Asp Ser Pro Thr His Ser Thr Gly Gin Ile Lys Ala Glu		
885	890	895
Leu Val Cys Asn Tyr Val Gin Ser Gin Glu Leu Leu Trp Glu Gly		
900	905	910
Gly Gly Arg Glu Asp Ala Pro Ala Glu Glu Pro Ser Tyr Glu Ser Pro		
915	920	925
Lys Phe Leu Gly Glu Ser Glu Val Ser Pro Ser Arg Ala Lys Ala Phe		
930	935	940
Val Asn Thr Tyr Gly Pro Gly Phe Gly Pro Asn Leu Pro Asn His Lys		
945	950	955
Ser Gly Ser Tyr Pro Thr Pro Ser Pro Cys His Glu Asn Phe Val Val		
965	970	975
Gly Ala Asn Arg Ala Ser His Arg Ala Ala Ala Pro Pro Arg Ile Leu		
980	985	990
Pro Pro Leu Pro Thr Cys Tyr Gly Pro Leu Lys Val Gly Gly Thr Asn		
995	1000	1005
Pro Ser Cys Gly His Pro Glu Val Gly Arg Leu Gly Gly Pro Ala		
1010	1015	1020
Leu Tyr Pro Pro Pro Glu Gly Gin Val Cys Asn Pro Leu Asp Ser Leu		
1025	1030	1035
Asp Leu Asp Asn Thr Glu Leu Asp Phe Val Ala Ile Leu Asp Glu Pro		
1045	1050	1055
Gly Glu Ile Ser Pro Pro Pro Ser His Asp Glu Arg Gly Ser Ser Gly		
1060	1065	1070
His Thr Pro Pro Pro Ser Gly Pro Pro Asn Met Ala Val Gly Asn Met		
1075	1080	1085
Ser Val Leu Leu Arg Ser Leu Pro Gly Glu Thr Glu Phe Leu Asn Ser		
1090	1095	1100
Ser Ala		
1105		
<210> 16		
<211> 3690		
<212> 984		
<213> Human		
<400> 16		
ccggccatcg agccatggac cggatcgttcc ggcggccatcg ccggacacga gtgcaccc		
accccttcctt gagatgcgtttt gttcaactcg atgaccccaas cacmatacg ttagcatgt		
ggccctgtgtt gtcivrgggc ctccccactt caggggcccc ccgggtgggg ggccggag		
ctgtccatggcc cggccatcgcc caauussgt aaacttaatgt cggggccccc caggatgt		
caagccatcg agaccaacag ctgcacccggc ggcccaatctt tttttttttttt cggggatgt		

97 98
gicaagttgc ccaangaaeg ggcactgtcc sictmectc igteggatgc nagectggac 360
eigengacgg itatcrgmc steaccceagc tecctcgtag ctttcataca ctcggcgtgc 420
acatctccag gaggeccata eggicatcic tecattggca ccaitgagcc acitctggca 480
tteeccagecc agatgaatca ccasasaggc ecctcgccit ccittgggt crageccftgt 540
ggteccatg acitcgecc eggtaggatg atccacate ctcagtcggc gggacccctt 600
ccascttgc agetgaaatc tgaatggac atgrctttg gcaactgtcc gggaggaacn 660
ttggasaggc atsaitgcac eccttccatcc acaggccatc aggtatccccf gttggggatg 720
ctggatggc gggaggauet rgagagagag gagaagccgt agccgtata tttgttatgaa 780
aclgacgtcc gitggatgg ctgcagccag gsatttgact ccasagagca gtttgtgeac 840
cacatcaaca gggagccat ccacggggag cggaggagt tttgtgttca ttggggggcc 900
tgcitccaggc agttagggcc cttaaaagcc cagiamatc tggggccac catggccnaga 960
cacaatggcc agaagccaca caugccacg tttgaagggi gcccggaaatc atccatcaacg 1020
cicgaaaacc tgaagaaacg ctggccggcc cacacgggtt agaagccata cctgtgtgac 1080
ccggaggccgt gcagtaaage ctccagcaat gcccggaaatc gageccaaatccca 1140
acccatcca atgagaaacg gtatgtatgt aagcccttg getgcaccaa nogaatataa 1200
gatecttgcgt cccggggaaa scalgtaaag acatgtccatg gtcctggccg ecacgttgc 1260
aaacggccacg gggggatgg eccttccgttcc ecggccatcc ecatttccatc agtggggcc 1320
nagagggcgc gggggggagg icccatccgg gaggaanccca gactggatgt gcccggagggi 1380
cccaatggccg cccggccacg eccttggggcc ecggccatcc gcaatccatcc 1440
ccggaggatgt ecggccatcc acacatgtt gggaaaatgc ctggccatgc agggggccago 1500
actggccggcc tccatccatcc ecggccatcc eccttggggcc ecggccatcc tccgttccatc 1560
cttgcggccg ittggaaacc ecggccatcc ecggccatcc eccttggggcc ecggccatcc 1620
ecggccatcc eccttggggcc ecggccatcc ecggccatcc eccttggggcc ecggccatcc 1680
cccccacgtt eccttggggcc ecggccatcc ecggccatcc eccttggggcc ecggccatcc 1740
gtccggccg ecggccatcc ecggccatcc eccttggggcc ecggccatcc ecggccatcc 1800
gtatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 1860
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 1920
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 1980
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2040
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2100
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2160
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2220
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2280
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2340
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2400
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2460
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2520
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2580
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2640
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2700
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2760
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2820
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2880
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 2940
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 3000
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 3060
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 3120
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 3180
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 3240
tccatccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc ecggccatcc 3300

99

100

ccaccttcctt cttggccccc caccatggctt gtggggcaaca tgagtgtttt actgtatcc 3360
 ctacttgccc aacatggattt ctttccttcat agtgccttaaa gagttggggaa tcttcatacat 3420
 ccacatggcc tcattttttttt gggttttttt cttttttttt aaatttttttt agttttttttt 3480
 ccatgtttttt gttttttttt ttatggctttt gggtttttttt ttatggctttt ttatggctttt 3540
 aatgtttttttt gttttttttt ttatggctttt ttatggctttt ttatggctttt ttatggctttt 3600
 <210> 17
 <211> 1048
 <212> PRT
 <213> Human
 <400> 17
 Met Phe Asn Ser Met Thr Pro Pro Pro Ile Ser Ser Tyr Gly Glu Pro
 1 5 10 15
 Cys Cys Leu Arg Pro Leu Pro Ser Gln Gly Ala Pro Ser Val Gly Thr
 20 25 30
 Glu Gly Leu Ser Gly Pro Pro Phe Cys His Gln Ala Asn Leu Met Ser
 35 40 45
 Gly Pro His Ser Tyr Gly Pro Ala Arg Glu Thr Asn Ser Cys Thr Gln
 50 55 60
 Gly Pro Leu Phe Ser Ser Pro Arg Ser Ala Val Lys Leu Thr Lys Lys
 65 70 75 80
 Arg Ala Leu Ser Ile Ser Pro Leu Ser Asp Ala Ser Leu Asp Leu Gln
 85 90 95
 Thr Val Ile Arg Thr Ser Pro Ser Ser Leu Val Ala Phe Ile Asn Ser
 100 105 110
 Arg Cys Thr Ser Pro Gly Gly Ser Tyr Gly His Leu Ser Ile Gly Thr
 115 120 125
 Met Ser Pro Ser Leu Gly Phe Pro Ala Gln Met Asn His Gln Lys Gly
 130 135 140

 Pro Ser Pro Ser Phe Gly Val Gln Pro Cys Gly Pro His Asp Ser Ala
 145 150 155 160
 Arg Gly Gly Met Ile Pro His Pro Gln Ser Arg Gly Pro Phe Pro Thr
 165 170 175
 Cys Gln Leu Lys Ser Glu Leu Asp Met Leu Val Gly Lys Cys Arg Glu
 180 185 190
 Gln Pro Leu Glu Gly Asp Met Ser Ser Pro Asn Ser Thr Gly Ile Gln
 195 200 205
 Asp Pro Leu Leu Gly Met Leu Asp Gly Arg Gln Asp Leu Gln Arg Glu
 210 215 220
 Glu Lys Arg Glu Pro Glu Ser Val Tyr Glu Thr Asp Cys Arg Trp Asp
 225 230 235 240
 Gly Cys Ser Gln Gln Phe Asp Ser Gln Glu Gln Leu Val His His Ile
 245 250 255
 Asn Ser Glu His Ile His Gly Glu Arg Lys Glu Phe Val Cys His Trp
 260 265 270
 Gly Gly Cys Ser Arg Glu Leu Arg Pro Phe Lys Ala Gln Tyr Met Leu
 275 280 285
 Val Val His Met Arg Arg His Thr Gly Glu Lys Pro His Lys Cys Thr
 290 295 300
 Phe Glu Gly Cys Arg Lys Ser Tyr Ser Arg Leu Glu Asn Leu Lys Thr

101

102

His Leu Arg Ser His Thr Gly Glu Lys Pro Tyr Met Cys Glu His Glu
 305 310 315 320
 Gly Cys Ser Lys Ala Phe Ser Asn Ala Ser Asp Arg Ala Lys His Gln
 325 330 335
 Asn Arg Thr His Ser Asn Glu Lys Pro Tyr Val Cys Lys Leu Pro Gly
 340 345 350
 Cys Thr Lys Arg Tyr Thr Asp Pro Ser Ser Leu Arg Lys His Val Lys
 355 360 365
 Thr Val His Glu Pro Asp Ala His Val Thr Lys Arg His Arg Gly Asp
 370 375 380
 Gly Pro Leu Pro Arg Ala Pro Ser Ile Ser Thr Val Glu Pro Lys Arg
 385 390 395
 Glu Arg Glu Gly Gly Pro Ile Arg Glu Glu Ser Arg Leu Thr Val Pro
 400 405 410
 Glu Gly Ala Met Lys Pro Gln Pro Ser Pro Gly Ala Gln Ser Ser Cys
 415 420 425
 430 435 440
 445 450 455
 Ser Ser Asp His Ser Pro Ala Gly Ser Ala Ala Asn Thr Asp Ser Gly
 460 465 470
 Val Glu Met Thr Gly Asn Ala Gly Gly Ser Thr Glu Asp Leu Ser Ser
 475 480 485
 Leu Asp Glu Gly Pro Cys Ile Ala Gly Thr Gly Leu Ser Thr Leu Arg
 490 495 500
 Arg Leu Gln Asn Leu Arg Leu Asp Gln Leu His Gln Leu Arg Pro Ile
 505 510 515
 Gly Thr Arg Gly Leu Lys Leu Pro Ser Leu Ser His Thr Gly Thr Thr
 520 525 530
 Val Ser Arg Arg Val Gly Pro Pro Val Ser Leu Glu Arg Arg Ser Ser
 535 540 545
 Ser Ser Ser Ser Ile Ser Ser Ala Tyr Thr Val Ser Arg Arg Ser Ser
 550 555 560
 Leu Ala Ser Pro Phe Pro Pro Gly Ser Pro Pro Glu Asn Gln Gly Ala Ser
 565 570 575
 Ser Leu Pro Gly Leu Met Pro Ala Gln His Tyr Leu Leu Arg Ala Arg
 580 585 590
 Tyr Ala Ser Ala Arg Gly Gly Thr Ser Pro Thr Ala Ala Ser Ser
 595 600 605
 610 615 620
 Glu Tyr Pro Gly Tyr Asn Pro Asn Ala Gly Val Thr Arg Arg Ala Ser
 625 630 635
 Asp Pro Ala Gln Ala Ala Asp Arg Pro Ala Pro Ala Arg Val Gln Arg
 640 645 650
 Phe Lys Ser Leu Gly Cys Val His Thr Pro Pro Thr Val Ala Gly Gly
 655 660 665
 Gly Gln Asn Phe Asp Pro Tyr Leu Pro Thr Ser Val Tyr Ser Pro Gln
 670 675 680
 Pro Pro Ser Ile Thr Gln Asn Ala Ala Met Asp Ala Arg Gly Leu Gln

103

104

690	695	700
Gln Glu Pro Glu Val Gly Thr Ser Met Val Gly Ser Ser Gln Leu Asn Pro		
705	710	715
Tyr Met Asp Phe Pro Pro Thr Asp Thr Leu Gly Tyr Gly Gly Pro Glu		720
725	730	735
Gly Ala Ala Ala Glu Pro Tyr Gly Ala Arg Gly Pro Gly Ser Leu Pro		
740	745	750
Leu Gly Pro Gly Pro Pro Thr Asn Tyr Gly Pro Asn Pro Cys Pro Gln		
755	760	765
Gln Ala Ser Tyr Pro Asp Pro Thr Gln Gln Thr Trp Pro Pro His Pro		
770	775	780
Gln Pro Leu Phe Ser His Tyr Pro Gln Pro Ser Pro Pro Gln Tyr Leu		
785	790	795
Gln Ser Gly Pro Tyr Thr Gln Pro Pro Pro Asp Tyr Leu Pro Ser Gln		800
805	810	815
Pro Arg Pro Cys Leu Asp Phe Asp Ser Pro Thr His Ser Thr Gly Glu		
820	825	830
Leu Lys Ala Gln Leu Val Cys Asn Tyr Val Gln Ser Gln Gln Glu Leu		
835	840	845
Leu Trp Gln Gly Gly Arg Glu Asp Ala Pro Ala Gln Glu Pro Ser		
850	855	860
Tyr Gln Ser Pro Lys Phe Leu Gly Gly Ser Gln Val Ser Pro Ser Arg		
865	870	875
Ala Lys Ala Pro Val Asn Thr Tyr Gly Pro Gly Phe Gly Pro Asn Leu		
885	890	895
Pro Asn His Lys Ser Gly Ser Tyr Pro Thr Pro Ser Pro Cys His Glu		
900	905	910
 Asn Phe Val Val Gly Ala Asn Arg Ala Ser His Arg Ala Ala Ala Pro		
915	920	925
Pro Arg Leu Leu Pro Pro Leu Pro Thr Cys Tyr Gly Pro Leu Lys Val		
930	935	940
Gly Gly Thr Asn Pro Ser Cys Gly His Pro Gln Val Gly Arg Leu Gly		
945	950	955
Gly Gly Pro Ala Leu Tyr Pro Pro Pro Gln Gly Gln Val Cys Asn Pro		
965	970	975
Leu Asp Ser Leu Asp Leu Asp Asn Thr Gln Leu Asp Phe Val Ala Ile		
980	985	990
Leu Asp Glu Pro Gln Gly Leu Ser Pro Pro Pro Ser His Asp Gln Arg		
995	1000	1005
Gly Ser Ser Gly His Thr Pro Pro Pro Ser Gly Pro Pro Asn Met Ala		
1010	1015	1020
Val Gly Asn Met Ser Val Leu Leu Arg Ser Leu Pro Gly Glu Thr Gln		
1025	1030	1035
Phe Leu Asn Ser Ser Ala		
1045		
<210> 18		
<211> 3600		
<212> RNA		
<213> Human		

205

2408

REFERENCES

337

308

109			110
260	266	270	
Ala Met Asp Ser Thr Arg Phe Pro Ser Pro Arg Leu Ser Ala Arg Pro			
275	280	285	
Ser Arg Lys Arg Thr Leu Ser Ile Ser Pro Leu Ser Asp His Ser Phe			
290	295	300	
Asp Leu Gln Thr Met Ile Arg Thr Ser Pro Asn Ser Leu Val Thr Ile			
305	310	315	320
Leu Asn Asn Ser Arg Ser Ser Ser Ser Ala Ser Gly Ser Tyr Gly His			
325	330	335	
Leu Ser Ala Ser Ala Ile Ser Pro Ala Leu Ser Phe Thr Tyr Pro Ser			
340	345	350	
Ala Pro Val Ser Leu His Met His Gln Gln Ile Leu Ser Arg Gln Gln			
355	360	365	
Ser Leu Gly Ser Ala Phe Gly His Ser Pro Pro Leu Ile His Pro Ala			
370	375	380	
Pro Thr Phe Pro Trp Gln Arg Pro Ile Pro Gly Ile Pro Thr Val Leu			
385	390	395	400
Asp Pro Val Gln Val Ser Ser Gly Pro Ser Gln Ser Ser Gln Ser Lys			
405	410	415	
Pro Thr Ser Gln Ser Ala Val Ser Ser Thr Gly Gly Pro Met His Asn			
420	425	430	
Lys Arg Ser Lys Ile Lys Pro Asp Gln Asp Leu Pro Ser Pro Gly Ser			
435	440	445	
Arg Gly Gln Gln Glu Gln Pro Gln Gly Thr Thr Leu Val Lys Gln Gln			
450	455	460	
Ala Asp Lys Asp Glu Ser Lys Gln Glu Pro Gln Val Ile Tyr Glu Thr			
465	470	475	480
Asn Cys His Trp Gln Gly Cys Thr Arg Glu Phe Asp Thr Gln Asp Gln			
485	490	495	
Leu Val His His Ile Asn Asn Asp His Ile His Gly Glu Lys Lys Gln			
500	505	510	
Phe Val Cys Arg Trp Leu Asp Cys Ser Arg Gln Gln Lys Pro Phe Lys			
515	520	525	
Ala Gln Tyr Met Leu Val Val His Met Arg Arg His Thr Gly Glu Lys			
530	535	540	
Pro His Lys Cys Thr Phe Glu Gly Cys Thr Lys Ala Tyr Ser Arg Leu			
545	550	555	560
Gln Asn Leu Lys Thr His Leu Arg Ser His Thr Gly Glu Lys Pro Tyr			
565	570	575	
Val Cys Gln His Gln Gly Cys Asn Lys Ala Phe Ser Asn Ala Ser Asp			
580	585	590	
Arg Ala Lys His Gln Asn Arg Thr His Ser Asn Gln Lys Pro Tyr Val			
595	600	605	
Cys Lys Ile Pro Gly Cys Thr Lys Arg Tyr Thr Asp Pro Ser Ser Leu			
610	615	620	
Arg Lys His Val Lys Thr Val His Gly Pro Gln Ala His Val Thr Lys			
625	630	635	640
Lys Gln Arg Gly Asp Met His Pro Arg Pro Pro Pro Pro Arg Asp Ser			
645	650	655	

111

112

Gly Ser His Ser Glu Ser Arg Ser Pro Gly Arg Pro Thr Glu Gly Ala
 660 665 670

Phe Gly Glu Glu Lys Glu Leu Ser Asn Thr Thr Ser Lys Arg Glu Glu
 675 680 685

Cys Leu Glu Val Lys Thr Val Lys Ala Glu Lys Pro Met Thr Ser Glu
 690 695 700

Pro Ser Pro Gly Gly Glu Ser Ser Cys Ser Ser Glu Glu Ser Pro Ile
 705 710 715 720

Ser Asn Tyr Ser Asn Ser Gly Leu Glu Leu Pro Leu Thr Asp Gly Gly
 725 730 735

Ser Val Ala Asp Leu Ser Ala Ile Asp Glu Thr Pro Ile Met Asp Ser
 740 745 750

Thr Ile Ser Thr Ala Thr Thr Ala Leu Ala Leu Glu Ala Arg Arg Asn
 755 760 765

Pro Ala Gly Thr Lys Itp Met Glu His Ile Lys Leu Glu Arg Leu Lys
 770 775 780

Gln Val Asn Gly Met Phe Pro Arg Leu Asn Pro Ile Leu Pro Ser Lys
 785 790 795 800

Ala Pro Ala Val Ser Pro Leu Ile Gly Asn Gly Thr Gln Ser Asn Asn
 805 810 815

Asn Tyr Ser Ser Gly Gly Pro Gly Thr Leu Leu Pro Ser Arg Ser Asp
 820 825 830

Leu Ser Gly Val Asp Phe Thr Val Leu Asn Thr Leu Asn Arg Arg Asp
 835 840 845

Ser Asn Thr Ser Thr Ile Ser Ser Ala Tyr Leu Ser Ser Arg Arg Ser
 850 855 860

Ser Gly Ile Ser Pro Cys Phe Ser Ser Arg Arg Ser Ser Gln Ala Ser
 865 870 875 880

Gln Ala Glu Gly Arg Pro Gln Asn Val Ser Val Ala Asp Ser Tyr Asp
 885 890 895

Pro Ile Ser Thr Asp Ala Ser Arg Arg Ser Ser Glu Ala Ser Gln Gly
 900 905 910

Asp Gly Leu Pro Ser Leu Leu Ser Leu Thr Pro Val Gln Gln Tyr Ala
 915 920 925

Leu Lys Ala Lys Tyr Ala Ala Pro Thr Gly Gly Pro Pro Pro Thr Pro
 930 935 940

Leu Pro His Met Glu Arg Leu Ser Leu Lys Thr Lys Met Ala Leu Leu
 945 950 955 960

Gly Glu Gly Arg Asp Ser Gly Val Thr Leu Pro Pro Val His Pro Pro
 965 970 975

Arg Arg Cys Ser Asp Gly Gly His Thr Tyr Arg Gly Arg His Leu
 980 985 990

Met Pro His Asp Ala Leu Ala Asn Ser Val Arg Arg Asp Ser Asp Pro
 995 1000 1005

Val Arg Thr Val Ser Glu Asn Met Ser Leu Ala Arg Val Gln Arg Phe
 1010 1015 1020

Ser Ser Leu Asn Ser Phe Asn Pro Pro Asn Leu Pro Pro Ser Val Glu
 1025 1030 1035 1040

113

114

Lys Arg Ser Leu Val Leu Glu Asn Tyr Thr Arg Gln Glu Ser Ser Gln
 1045 1050 1055
 Pro Arg Tyr Phe Gln Ala Ser Pro Cys Pro Pro Ser Ile Thr Glu Asn
 1060 1065 1070
 Val Ala Leu Glu Ala Leu Thr Met Asp Ala Asp Ala Asn Leu Asn Asp
 1075 1080 1085
 Gln Asp Leu Leu Pro Asp Asp Val Val Gln Tyr Leu Asn Ser Gln Asn
 1090 1095 1100
 Gln Thr Gly Tyr Gly Gln Glu Leu Gln Ser Gly Ile Ser Gln Asp Ser
 1105 1110 1115 1120
 Lys Val Ala His Glu Pro Glu Asp Leu Asp Leu Ala Gly Leu Pro Asp
 1125 1130 1135
 Ser His Val Gly Gln Glu Tyr Pro Ala Leu Gln Gln Pro Cys Ser Gln
 1140 1145 1150
 Gly Ser Lys Thr Asp Leu Pro Ile Glu Trp Asn Glu Val Ser Ser Gly
 1155 1160 1165

Thr Ser Asp Leu Ser Ser Ser Lys Leu Lys Cys Gly Glu Gln Arg Pro
 1170 1175 1180
 Arg Gln Gln Pro Arg Gly Phe Gly Leu Tyr Asn Asn Met Val Val His
 1185 1190 1195 1200
 Pro His Asn Leu Trp Lys Val Gly Thr Gly Pro Ala Gly Gly Tyr Gln
 1205 1210 1215
 Thr Leu Gly Glu Asn Ser Ser Thr Tyr Asn Gly Pro Glu His Phe Ala
 1220 1225 1230
 Ile His Ser Gly Asp Gly Leu Gly Thr Asn Gly Asn Thr Phe His Gln
 1235 1240 1245
 Gln Pro Phe Lys Thr Gln Gln Tyr Gly Ser Gln Leu Asn Arg Gln Pro
 1250 1255 1260
 Leu Thr Ser Ser Ala Leu Asp His Ala Cys Gly Thr Gly Ile Gln Gly
 1265 1270 1275 1280
 Ser Lys Leu Lys Gly Asn Ser Leu Gln Glu Asn Gly Gly Leu Leu Asp
 1285 1290 1295
 Phe Ser Leu Ser Val Ala Pro Asn Glu Leu Ala Gly Asn Thr Val Asn
 1300 1305 1310
 Gly Met Gln Thr Gln Asp Gln Met Gly Gln Gly Tyr Ile Ala His Gln
 1315 1320 1325

Leu Leu Ser Gly Ser Met Gln His Gln Gly Pro Ser Arg Pro Gly Gln
 1330 1335 1340
 Gln Val Leu Gly Gln Val Gly Ala Thr Ser His Ile Asn Ile Tyr Glu
 1345 1350 1355 1360
 Gly Thr Gln Ser Cys Leu Pro Gly Thr Gln Asp Asn Ser Ser Gln Pro
 1365 1370 1375
 Ser Ser Met Ala Ala Ile Arg Gly Tyr Gln Pro Cys Ala Ser Tyr Gly
 1380 1385 1390
 Gly Asn Arg Arg Gln Ala Met Pro Arg Gly Asn Leu Thr Leu Gln Gln
 1395 1400 1405
 Gly Gln Leu Ser Asp Met Ser Gln Ser Ser Arg Val Asn Ser Ile Lys
 1410 1415 1420

115

116

Met Glu Ala Glu Gly Glu Ser Glu Glu Leu Cys Ser Thr Val Glu Asn
 1426 1430 1435 1440

Tyr Ser Gly Glu Phe Tyr Asp Glu Thr Met Gly Phe Ser Glu Glu Asp
 1446 1450 1455

Arg Lys Ala Gly Ser Phe Ser Leu Ser Asp Ala Asn Cys Leu Leu Glu
 1460 1465 1470

Gly Thr Cys Thr Glu Asn Ser Glu Leu Leu Ser Pro Gly Ala Asn Glu
 1475 1480 1485

Val Thr Ser Thr Val Asp Ser Phe Glu Ser His Asp Leu Glu Gly Val
 1490 1495 1500

Gln Ile Asp Phe Asp Ala Ile Ile Asp Asp Gly Asp His Thr Ser Leu
 1505 1510 1515 1520

Met Ser Gly Ala Leu Ser Pro Ser Ile Ile Glu Asn Leu Ser His Ser
 1525 1530 1535

Ser Ser Arg Leu Thr Thr Pro Arg Ala Ser Leu Pro Phe Pro Ile Pro
 1540 1545 1550

Ile His Gly His His Gln His Gly Tyr Arg Gly Tyr Glu Phe Phe Ala
 1555 1560 1565

Asp Leu Pro Cys Arg Arg Lys Gln Val Pro Cys Ser Tyr Ala Val Gly
 1570 1575 1580

Gly Arg Gln Gly Pro Gln Thr Gln Arg Leu Lys
 1585 1590 1595

<210> 20

<211> 5113

<212> DNA

<213> Mouse

<400> 20

ccggccacccgg ccacacccatg cccgcggggg ccgcacccctgg gatcagtcgg gccaacctgg 60
 gtatggcgag tccgggttgc gcgcgcgggg ggaggcgtgti gggtttgggg ctggadagcc 120
 aaaggccgggg ggatcccttt gagaaacccgg ctggaaatgti gggaaagacat tatggggggcc 180
 cggcccccacg gtttcaacggc gatcgaggggg aaaaaatccat tggggaaatgti 240
 cccatggggas tggatgtgg gggaaaggccg gtggccctca gttaccatc caatgggggt 300
 gaaatgtccg gacaaatcta tcccccgggggg agaaaggaaaacg caatcatatc gggcccttgg 360
 agtgcgtgggg gtcgtcaaaaaa atccatgtgg gggcccttggc tggcttagtga tggggggggcc 420
 tccgttgttca agaaatggatc caatgttcatc ttatccatc tggggggggcc ctccatccat 480
 tccgttgtggggat tggatgttgc catggatccat cggatgggtt acatggggcc tccatccatc 540
 ctccatccatc ttatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc 600
 ggcgttacc atatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc 660
 atatgttgc tccatccatc ttatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc 720
 gtcgttgtggcc tggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc 780
 atccatccatc tggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc 840
 tccatccatc tggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc 900
 ctggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc 960
 tggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc 1020
 ctggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc 1080
 tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc 1140
 tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc 1200
 tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc 1260
 tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc 1320
 tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc ttatgttgc tggatgttgc tccatccatc 1380

117

118

caggccatc cttggcccttc tggatcttc cagagcaage ccacaaggaa gtcgtcgatg 1440
 agcagacatcg gtggccatc gatataatcg tggcccaaga tcaagccatc tggagaccc 1500
 ccacggccatcg ggcacccgggg ccacggccatcg cttggccggaa gaaacaaccct gtcgtcgatc 1560
 ggatggggca aatgtggaaatc caacggggatc ctgtggatcg ttcacggatc aaactgtccatc 1620
 tggggatcg tccacccatcg cttggccatcg cttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 1680
 gacccatc atggggatcg gatggggatcg gttgtggatcg gttgtggatcg tttggccatcg 1740
 cttggccatcg tttggccatcg gttgtggatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 1800
 aatgttcatc tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 1860
 aatgttcatc tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 1920
 aatgttcatc tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 1980
 gatggggatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2040
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2100
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2160
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2220
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2280
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2340
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2400
 atgtatggaa tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2460
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2520
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2580
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2640
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2700
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2760
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2820
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2880
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 2940
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3000
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3060
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3120
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3180
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3240
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3300
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3360
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3420
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3480
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3540
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3600
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3660
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3720
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3780
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3840
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3900
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 3960
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 4020
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 4080
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 4140
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 4200
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 4260
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 4320
 tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg tttggccatcg 4380

121.

122

Met Ala Leu Leu Thr Gly Glu Arg Ser Pro Tyr Ala Asp Ile Ile Pro
 245 250 255
 Ser Ala Ala Thr Ala Gly Thr Gly Ala Ile His Met Glu Tyr Leu His
 260 265 270
 Ala Met Asp Ser Thr Arg Phe Ser Ser Pro Arg Leu Ser Asp His Arg Pro
 275 280 285
 Ser Arg Lys Arg Thr Leu Ser Ile Ser Pro Leu Ser Asp His Ser Phe
 290 295 300
 Asp Leu Gln Thr Met Ile Arg Thr Ser Pro Asn Ser Leu Val Thr Ile
 305 310 315 320
 Leu Asn Asn Ser Arg Ser Ser Ser Ser Ala Ser Gly Ser Tyr Gly His
 325 330 335
 Leu Ser Ala Ser Ala Ile Ser Pro Ala Leu Ser Phe Thr Tyr Ser Ser
 340 345 350
 Ala Pro Val Ser Leu His Met His Gln Gln Ile Leu Ser Arg Gln Gln
 355 360 365
 Ser Leu Gly Ser Ala Phe Gly His Ser Pro Pro Leu Ile His Pro Ala
 370 375 380
 Pro Thr Phe Pro Thr Gln Arg Pro Ile Pro Gly Ile Pro Thr Val Leu
 385 390 395 400
 Asn Pro Val Gln Val Ser Ser Gly Pro Ser Glu Ser Ser Gln Asn Lys
 405 410 415
 Pro Thr Ser Gln Ser Ala Val Ser Ser Thr Gly Asp Pro Met His Asn
 420 425 430

 Lys Arg Ser Lys Ile Lys Pro Asp Glu Asp Leu Pro Ser Pro Gly Ala
 435 440 445
 Arg Gly Gln Gln Glu Gln Pro Glu Gly Thr Thr Leu Val Lys Glu Glu
 450 455 460
 Gly Asp Lys Asp Glu Ser Lys Glu Glu Pro Glu Val Ile Tyr Glu Thr
 465 470 475 480
 Asn Cys His Trp Gln Gly Cys Ala Arg Glu Phe Asp Thr Gln Glu Glu
 485 490 495
 Leu Val His His Ile Asn Asn Asp His Ile His Gln Glu Lys Lys Glu
 500 505 510
 Phe Val Cys Arg Trp Leu Asp Cys Ser Arg Glu Gln Lys Pro Phe Lys
 515 520 525
 Ala Gln Tyr Met Leu Val Val His Met Arg Arg His Thr Gly Glu Lys
 530 535 540
 Pro His Lys Cys Thr Phe Glu Gly Cys Thr Lys Ala Tyr Ser Arg Leu
 545 550 555 560
 Glu Asn Leu Lys Thr His Leu Arg Ser His Thr Gly Glu Lys Pro Tyr
 565 570 575
 Val Cys Glu His Glu Gly Cys Asn Lys Ala Phe Ser Asn Ala Ser Asp
 580 585 590

 Arg Ala Lys His Gln Asn Arg Thr His Ser Asn Glu Lys Pro Tyr Val
 595 600 605
 Cys Lys Ile Pro Gly Cys Thr Lys Arg Tyr Thr Asp Pro Ser Ser Leu
 610 615 620

123

124

Arg Lys His Val Lys Thr Val His Gly Pro Glu Ala His Val Thr Lys
 625 630 635 640
 Lys Gln Arg Gly Asp Ile His Pro Arg Pro Pro Pro Arg Asp Ser
 645 650 655
 Gly Ser His Ser Gln Ser Arg Ser Pro Gly Arg Pro Thr Gln Gly Ala
 660 665 670
 Leu Gly Glu Gln Gln Asp Leu Ser Asn Thr Thr Ser Lys Arg Glu Glu
 675 680 685
 Cys Leu Gln Val Lys Thr Val Lys Ala Glu Lys Pro Met Thr Ser Gln
 690 695 700
 Pro Ser Pro Gly Gly Gln Ser Ser Cys Ser Ser Gln Gln Ser Pro Ile
 705 710 715 720
 Ser Asn Tyr Ser Asn Ser Gln Leu Glu Leu Pro Leu Thr Asp Gly Gly
 725 730 735
 Ser Ile Gly Asp Leu Ser Ala Ile Asp Glu Thr Pro Ile Met Asp Ser
 740 745 750
 Thr Ile Ser Thr Ala Thr Thr Ala Leu Ala Leu Gln Ala Arg Arg Asn
 755 760 765
 Pro Ala Gly Thr Lys Trp Met Glu His Val Lys Leu Gln Arg Leu Lys
 770 775 780
 Gln Val Asn Gly Met Phe Pro Arg Leu Asn Pro Ile Leu Pro Pro Lys
 785 790 795 800
 Ala Pro Ala Val Ser Pro Leu Ile Gly Asn Gly Thr Gln Ser Asn Asn
 805 810 815
 Thr Cys Ser Leu Gln Gly Pro Met Thr Leu Leu Pro Gly Arg Ser Asp
 820 825 830
 Leu Ser Gln Val Asp Val Thr Met Leu Asn Met Leu Asn Arg Arg Asp
 835 840 845
 Ser Ser Ala Ser Thr Ile Ser Ser Ala Tyr Leu Ser Ser Arg Arg Ser
 850 855 860
 Ser Gln Ile Ser Pro Cys Phe Ser Ser Arg Arg Ser Ser Gln Ala Ser
 865 870 875 880
 Gln Ala Glu Gly Arg Pro Gln Asn Val Ser Val Ala Asp Ser Tyr Asp
 885 890 895

 Pro Ile Ser Thr Asp Ala Ser Arg Arg Ser Ser Gln Ala Ser Gln Ser
 900 905 910
 Asp Gln Leu Pro Ser Leu Leu Ser Leu Thr Pro Ala Gln Gln Tyr Arg
 915 920 925
 Leu Lys Ala Lys Tyr Ala Ala Ala Thr Gly Gly Pro Pro Pro Thr Pro
 930 935 940
 Leu Pro Asn Met Glu Arg Ser Ser Leu Lys Thr Arg Leu Ala Leu Leu
 945 950 955 960
 Gly Asp Ala Leu Glu Pro Gly Val Ala Leu Pro Pro Val His Ala Pro
 965 970 975
 Arg Arg Cys Ser Asp Gly Gly Ala His Gly Tyr Gly Arg Arg His Leu
 980 985 990
 Gln Pro His Asp Ala Leu Gln His Gly Val Arg Arg Ala Ser Asp Pro
 995 1000 1005
 Val Arg Thr Gln Ser Glu Gly Leu Ala Leu Pro Arg Val Pro Arg Phe

125

126

1010 1015 1020
 Ser Ser Leu Ser Ser Cys Asn Pro Pro Ala Met Ala Thr Ser Ala Glu
 1025 1030 1035 1040
 Lys Arg Ser Leu Val Leu Glu Asn Tyr Thr Arg Pro Glu Gly Gly Glu
 1045 1050 1055

 Ser Arg Asn Phe His Ser Ser Pro Cys Pro Pro Ser Ile Thr Glu Asn
 1060 1065 1070
 Val Thr Leu Glu Ser Leu Thr Met Asp Ala Asp Ala Asn Leu Asn Asp
 1075 1080 1085
 Glu Asp Phe Leu Pro Asp Asp Val Val Glu Tyr Leu Asn Ser Glu Asn
 1090 1095 1100
 Glu Ala Gly Tyr Glu Glu His Phe Pro Ser Ala Leu Pro Asp Asp Ser
 1105 1110 1115 1120
 Lys Val Pro His Gly Pro Gly Asp Phe Asp Ala Pro Glu Leu Pro Asp
 1125 1130 1135
 Ser His Ala Gly Glu Glu His Phe Ala Leu Glu Glu Pro Cys Pro Glu
 1140 1145 1150
 Gly Ser Lys Thr Asp Leu Pro Ile Glu Trp Asn Glu Val Ser Ser Gly
 1155 1160 1165
 Ser Ala Asp Leu Ser Ser Ser Lys Leu Lys Cys Gly Pro Arg Pro Ala
 1170 1175 1180
 Val Pro Glu Thr Arg Ala Phe Gly Phe Cys Asn Gly Met Val Val His
 1185 1190 1195 1200
 Pro Glu Asn Pro Leu Arg Ser Gly Pro Ala Gly Gly Tyr Glu Thr Leu
 1205 1210 1215
 Gly Glu Asn Ser Asn Pro Tyr Gly Pro Glu His Leu Met Leu His
 1220 1225 1230
 Asn Ser Pro Gly Ser Gly Thr Ser Gly Asn Ala Phe His Glu Glu Pro
 1235 1240 1245
 Cys Lys Ala Pro Glu Tyr Gly Asn Cys Leu Asn Arg Glu Pro Val Ala
 1250 1255 1260
 Pro Gly Ala Leu Asp Gly Ala Cys Gly Ala Gly Ile Glu Ala Ser Lys
 1265 1270 1275 1280
 Leu Lys Ser Thr Pro Met Glu Gly Ser Gly Glu Leu Asn Phe Gly
 1285 1290 1295
 Leu Pro Val Ala Pro Asn Glu Ser Ala Gly Ser Met Val Asn Gly Met
 1300 1305 1310
 Glu Asn Glu Asp Pro Val Gly Glu Gly Tyr Leu Ala His Glu Leu Leu
 1315 1320 1325
 Gly Asp Ser Met Glu His Pro Gly Ala Gly Arg Pro Gly Glu Glu Met
 1330 1335 1340
 Leu Gly Glu Ile Ser Ala Thr Ser His Ile Asn Ile Tyr Glu Gly Pro
 1345 1350 1355 1360

 Glu Ser Cys Leu Pro Gly Ala His Gly Met Gly Ser Glu Pro Ser Ser
 1365 1370 1375
 Leu Ala Val Val Arg Gly Tyr Glu Pro Cys Ala Ser Phe Gly Gly Ser
 1380 1385 1390
 Arg Arg Glu Ala Met Pro Arg Asp Ser Leu Ala Leu Glu Ser Gly Glu

127

128

1368	1400	1405
Leu Ser Asp Thr Ser Gln Thr Cys Arg Val Asn Gly Ile Lys Met Gln		
1410	1415	1420
Met Lys Gly Gln Pro His Pro Leu Cys Ser Asn Leu Gln Asn Tyr Ser		
1425	1430	1435
Gly Gln Phe Tyr Asp Gln Thr Val Gly Phe Ser Gln Gln Asp Thr Lys		
1445	1450	1455
Ala Gly Ser Phe Ser Ile Ser Asp Ala Ser Cys Leu Leu Gln Gly Thr		
1460	1465	1470
Ser Ala Lys Asn Ser Glu Leu Leu Ser Pro Gly Ala Asn Gln Val Thr		
1475	1480	1485
Ser Thr Val Asp Ser Leu Asp Ser His Asp Leu Glu Gly Val Gln Ile		
1490	1495	1500
Asp Phe Asp Ala Ile Ile Asp Asp Gly Asp His Ser Ser Leu Met Ser		
1505	1510	1515
		1520

Gly Ala Leu Ser Pro Ser Ile Ile Gln Asn Leu Ser His Ser Ser Ser		
1525	1530	1535
Arg Leu Thr Thr Pro Arg Ala Ser Leu Pro Phe Pro Val Ala Val His		
1540	1545	1550
Glu His His Gln His Gly Tyr Arg Gly His Glu Phe Phe Ala Asp Leu		
1555	1560	1565
Pro Ser Gly Arg Lys Gln Ile Pro Cys Ser Tyr Ala Ile Gly Phe Arg		
1570	1575	1580
Lys Lys Arg Leu Gln Pro Thr Glu Ile Asn Arg Ser		
1585	1590	1595
<210> 22		
<211> 5655		
<212> 184		
<213> Human		
<400> 22		

cgtatctaeg tggccatittt iggtcganga gngctgaaagt aatggggaga caatcatggcg 60
 gcccggatcc acgggtccac gaccacigaa angaaanbaag tigaggattt catatgtgg 120
 tgcgttttttcc gaaagatgtt gggggggaaa ggggttgcct ccggccatcc ttctatgtgg 180
 gatggaaatc ctggccatggat ttatccacaga gagggggggas aegggatccat tattggccca 240
 cggaaatgtcc aggggggtccag caaagtccatgtt gggggggatcc caaacttggcg tgggggggg 300
 gcccgttttgaa tcggatggatc gatccatgggg tccctggccatcc aatggatgttgg 360
 ccgttcccgcc ggaaatgttgc tgccttggccatcc cccaggatgtt gtttccatggcc gccccatcc 420
 caatccatcc atccatccatcc tgcatttccat cttccatgttcc caatgttgc gggccatccat 480
 gggggggatcc aatggatgttccat cttccatccatcc tgcatttgc gatccatccat 540
 ttcgttgcgtt cccatggatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc 600
 gttgttgcgtt cccatggatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc 660
 tataatccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc 720
 agccatccatcc atggggccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc 780
 ctgttccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc 840
 aatggggccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc 900
 aggttgttccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc 960
 agttttttccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc 1020
 aatccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc 1080
 aatccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc tccatccatcc 1140

129

130

atccataaagcc gauuaccaggc attaggttca gccittggac acagccctcc actccatccac 1200
 ccgtccccca ctttccccc accgaggccc ttcccgggc tccctacgg ttcgatccccc 1260
 gtcaggcgc gtcggggccc ttctggatcc tcacagaaca agcccacccg tgagtctgc 1320
 gtggcgccgaa ctgggttaccc gatgeacaaac aagaggtecn agataaaacc cgaigangac 1380
 ctccccccgc caggggcccg gggccggccg gaaaccccg aaggaaaccc acttgtccag 1440
 gggaaagggg ccacaaagatc bagaaacccg gageccgtaa gtcacatgtc gacaaactgc 1500
 cactggaaag gtcggcgccg gggatccgc accccaaaggc acgtttgtcc ccatataaat 1560
 aaacgnccata ttcttgggca gaaaggggg ttcgtgtgc 1620
 gaguuagaanc ctttcaancc cccgtatcc ttgggttgcgat atatggaaag scacccggcc 1680
 gaaacccgc acaaatggcc tttttttttgc: tgcacccagg cttatcccgat acatggaaac 1740
 ttgttttttttccatggatc ttcacactgg gagaacccat acgtttgtca gacccggccgt 1800
 tgcacccagg tttttttttgc: tgcacccagg cccgtatcc acacccaaacg hacgratcc 1860
 acatggaaaccc cttatgttgc caatattcc ggttgcacta aegttttcc acacccaaacg 1920
 ttccctccggaa aacatgttgc gatgttgcgtt ggcggccagg cttatgttgc acacccaaacg 1980
 cggggggaca tccatccatc gggccaccc cccggatgtt cccggccgtcc ttcacatcc 2040
 aggtttgttgc gggccaccc ttcggggatc ttgggttgcgat acgtttgtcc cccgtatcc 2100
 acctccaaacg gggggggatc cttccaggcc aacccgttcc gggccggccg gccsalgaca 2160
 ttcacccccc gtttttttttgc: ttcacccccc aacccgttcc cttccatcc 2220
 ttttttttttgc: ttcacccccc gtttttttttgc: ttcacccccc aacccgttcc 2280
 gtttttttttgc: ttcacccccc gtttttttttgc: ttcacccccc aacccgttcc 2340
 ttgttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 2400
 ctttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 2460
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 2520
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 2580
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 2640
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 2700
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 2760
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 2820
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 2880
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 2940
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3000
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3060
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3120
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3180
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3240
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3300
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3360
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3420
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3480
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3540
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3600
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3660
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3720
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3780
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3840
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3900
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 3960
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 4020
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 4080
 ttttttttttgc: ttcacccccc gggggggatc ttcacccccc aacccgttcc 4140

131

132

tgcactgcacg gggctcaucgg caaggccagc cagccgcataa gcttggcagt tgcaggggc 4260
 taccagccat gttccagctt tggggccagc agggcccaagg ctatgcggag gacccgcctt 4260
 gtcgtcgat caggacacgt cagigacaca agtgcgcactt gcaaggatgaa tggatcaag 4320
 stggggaaiga tagggcagcc ccatacgatg tgcgtcaatc tgcagaatia ctcggccag 4380
 ttcatgtacc aaacccgggg ctccatgcag caagccacga aacgcgggtt ttatccatt 4440
 tcggccgcgtt gcgcgcgtt acaggggacg agccgcacaa acttcgggtt acttcccc 4500
 ggtgtttatc gggtgtccacg cccggggacg agccgcacaa gccatgcac 4560
 cccatgtactt tgcgtccat catggatgat gggggccactt ccacgcgtat gtcggggcc 4620
 ctggggccca gtaatccatc gacccatcc cttatgcctt cccgcgtccac cccgcgtcc 4680
 ggttcctccat cttttttttt cttttttttt gttttttttt gttttttttt gttttttttt 4740
 gagttttttt cttttttttt tagggggatc aacccatggat tttttttttt tttttttttt 4800
 tttttttttt aatggccatc accccatggat atccatggat gttttttttt tttttttttt 4860
 tttttttttt cttttttttt aatggccatc aatccatggat tttttttttt tttttttttt 4920
 agatgtgtttt caatccatggat tttttttttt aacccatggat tttttttttt tttttttttt 4980
 tttttttttt cttttttttt tttttttttt gttttttttt tttttttttt tttttttttt 5040
 tttttttttt aaaaa 5055

【図面の簡単な説明】

*列を示す図である。

【図1】一文字表記によるマウスG411のアミノ酸配列*

【図1】

プリントページの続き

(SD)Int.Cl. ¹	識別記号	F.I	マーク(参考)
A 61 P	19/00	A 61 P 19/02	4C086
	19/02	19/03	4H045
	19/03	19/10	
	19/10	43/00	105
	43/00	C 12 Q 1/02	
C 12 N	5/06	1/68	A
	15/09	Z NA	Z
C 12 Q	1/02	33/15	Z
	1/68	33/50	D
G 01 N	33/15	33/53	M
	33/50	33/566	

33/63	C 0 7 K	14/47
	A 6 1 K	37/92
33/666	C 1 2 N	15/99
// C 0 7 K 14/47	S/00	Z N A A
		E

F ターミナル(参考) 26045 AA40 DA12 DA13 DA14 DA36
 FB02 FB03
 4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 CA09
 CA20 DA02 DA03 EA04 FA02
 FA06 GA13 GA18 HA11 HA14
 HA17
 4B063 QA01 QA05 QA13 QA17 QA19
 QQ08 QQ21 QQ41 QQ43 QQ53
 QQ61 QQ89 QR08 QR32 QR35
 QR40 QR42 QR56 QR62 QR77
 QR80 QS16 QS25 QS34 QS02
 4B065 AA91X AA91Y AA93X AA93Y
 AB01 AC14 AC20 BA02 CA24
 CA43 CA44 CA46
 4C084 AA02 AA13 AA17 BA01 BA02
 BA22 CA17 NA14 ZA96 ZA97
 ZB21
 4C086 AA01 EA16 MA01 MA04 NA14
 ZA96 ZA97 ZB21
 4B045 AA10 AA30 BA10 CA40 EA20
 EA50 FA74